

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Alexis MOYSE

Agrégé de l'Université
Chargé de Recherches au C. N. R. S.

1^{re} THÈSE. — Relations entre le métabolisme azoté et la respiration
des feuilles détachées.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 juin 1949, devant la Commission d'examen.

MM. R. COMBES,	<i>Président.</i>
L. PLANTEFOL	} <i>Examineurs.</i>
E. AUBEL	

PARIS

HERMANN & C^{ie}, ÉDITEURS
6, rue de la Sorbonne

1950



FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

Nom du Candidat : **MOYSE.**

Prénom : **Alexis.**

Date de la soutenance : 18 juin 1949.

Numéro d'ordre : Série A, 2311. N° 3183.

1

MOYSE (Alexis). — Relations entre le métabolisme azoté et la respiration des feuilles détachées. — Paris, Hermann et C^{ie}, édit., 1950, in-8°, 26 fig., iv-212 p.

(Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Série A. 2311. N° 3183).

2

MOYSE (Alexis). — Relations entre le métabolisme azoté et la respiration des feuilles détachées. — Paris, Hermann et C^{ie}, édit., 1950, in-8°, 26 fig., iv-212 p.

(Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Série A. 2311. N° 3183).

3

MOYSE (Alexis). — Relations entre le métabolisme azoté et la respiration des feuilles détachées. — Paris, Hermann et C^{ie}, édit., 1950, in-8°, 26 fig., iv-212 p.

(Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Série A. 2311. N° 3183).

4

MOYSE (Alexis). — Relations entre le métabolisme azoté et la respiration des feuilles détachées. — Paris, Hermann et C^{ie}, édit., 1950, in-8°, 26 fig., iv-212 p.

(Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Série A. 2311. N° 3183).

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Alexis MOYSE

Agrégé de l'Université
Chargé de Recherches au C.N. R. S.

1^{re} THÈSE. — Relations entre le métabolisme azoté et la respiration
des feuilles détachées.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 juin 1949, devant la Commission d'examen.

MM. R. COMBES,	<i>Président.</i>
L. PLANTEFOL	} <i>Examineurs.</i>
E. AUBEL	

PARIS

HERMANN & C^{ie}, ÉDITEURS

6, rue de la Sorbonne

1950

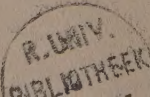
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen. M. A. CHATELET

PROFESSEURS

G. JULIA. T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	ROCARD. T	Physique.
A. DENJOY T	Théorie des Fonctions.	H. CARTAN. . . .	Mathématiques générales.
L. LUTAUD I	Géographie physique et Géologie dynamique.	SCHAEFFER. . . . T	Physiologie des fonctions.
E. DARMOIS. . . . T	Enseignement de Physique.	LAFFITTE. T	Chimie (P. C. B.).
Robert LÉVY. . . . T	Physiologie comparée.	FAVARD.	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.
Henri VILLAT. . . T	Mécanique des fluides et applications.	COULOMB. T	Physique du globe.
Ch. JACOB. T	Géologie.	M ^{lle} COUSIN T	Biologie animale (P. C. B.).
P. PASCAL. T	Chimie générale.	CHRÉTIEN	Chimie (P.C.B.)
M ^{me} RAMART-LUCAS T	Chimie organique.	P. DRACH	Zoologie.
FOCH T	Mécanique physique et expérimentale.	KASTLER	Physique.
PAUTHENIER. . . . T	Electrotechnique générale.	CHATELET T	Arithmétique et théorie des nombres.
De BROGLIE. . . . T	Théories physiques.	EPHRUSSI. T	Génétique.
JOB T	Chimie générale.	WURMSER. T	Biologie physico-chimique.
PRENANT T	Anatomie et Histologie comparées.	BAUER. T	Chimie-Physique.
COMBES. T	Physiologie végétale.	RIVIÈRE.	Géologie (P. C. B.)
GANNIER T	Géométrie supérieure.	GAUTHIERET. . . .	Biologie Végétale (P. C. B.).
PÉRÈS. T	Mécanique rationnelle.	LUCAS	Physique.
HACKSPILL T	Chimie minérale.	A. THOMAS	Evolution des êtres organisés.
LAUGIER T	Physiologie générale.	ARNULF	Optique appliquée.
TOUSSAINT T	Technique Aéronautique.	MAX MORAND. . . .	Physique.
M. CURIE T	Physique (P. C. B.).	SOLEILLET.	Physique.
G. RIBAUD. T	Hautes températures.	FORTIER. T	Mécanique expérimentale des fluides.
CHAZY T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	DANJON T	Astronomie.
CROZE T	Physique théorique et Physique céleste.	FROMAGEOT	Chimie biologique.
DUPONT. T	Théories chimiques.	LAPORTE.	Physique générale et Radio-activité.
VALIRON T	Calcul différentiel et Calcul intégral.	JANET.	Mathématiques générales.
BARRABÉ T	Géologie structurale et géologie appliquée.	PETIT. T	Biologie maritime.
VAVON T	Analyse et mesures chimiques.	QUENEY T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
G. DARMOIS T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	GALLIEN	Biologie animale (P. C. B.).
Jacques BOURCART.	Géographie physique et Géologie dynamique.	EICHORN	Biologie végétale (P. C. B.).
AUBEL T	Chimie biologique.	De CUGNAC	Biologie végétale (P. C. B.).
M ^{me} JOLIOT-CURIE. T	Physique générale et Radio-activité.	LAVAL	Physique (P. C. B.).
PLANTEFOL T	Botanique.	M ^{lle} CAUCHOIS. . . .	Chimie-Physique.
CABANNES T	Recherches physiques.	THELLIER.	Physique du Globe.
GRASSÉ. T	Evolution des êtres organisés.	AUDUBERT	Electrochimie.
PRÉVOST T	Chimie organique.	L'HÉRITIER.	Génétique.
BOULIGAND T	Application de l'analyse à la Géométrie.	GRIVET T	Radio-Electricité.
CHAUDRON T	Chimie appliquée.	PONCIN	Mécanique des fluides.
WYART. T	Minéralogie.	THIERY. T	Mécanique appliquée.
TEISSIER T	Zoologie.	DUBREIL	Mathématiques générales.
MANGENOT T	Biologie végétale.	QUELET	Chimie (P. C. B.).
P. AUGER. T	Physique quantique et relativité.	CAGNIARD.	Géophysique appliquée.
MONNIER	Physiologie générale.	CHAMPETIER. . . .	Chimie appliquée.
PIVETEAU T	Géologie.	CUVILLIER.	Géologie structurale et Géologie appliquée.
		JUNG	Pétrographie.
		TRILLAT.	Physique (P. C. B.).
		WIEMANN.	Chimie (P. C. B.).
		LICHNEROWICZ . . .	Mathématiques.
		JACQUINOT	Physiques (P. C. B.).
		VASSY.	Physique de l'atmosphère.
		DESTOUCHES . . .	Théories, Physiques.

Secrétaire. Ch. MONIER.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MON MAÎTRE
MONSIEUR LE PROFESSEUR L. PLANTEFOL



INTRODUCTION

« **L**A fonction respiratoire est l'échange de gaz : absorption d'oxygène et émission corrélative d'acide carbonique qui se produit entre l'être vivant et le milieu extérieur ; et cette fonction est définie par le lien invariable qui unit l'entrée d'un gaz à la sortie de l'autre, quelles que soient les réactions intermédiaires » (BONNIER G. et MANGIN L., 1885, p. 380).

Ce lien complexe est constitué par des oxydations cellulaires respiratoires dont le rythme (correspondant à l'Intensité respiratoire) est soumis à l'influence des conditions du milieu externe (température, état hygrométrique de l'atmosphère), comme l'ont établi BONNIER G. et MANGIN L. (1884, a, b et c).

Les oxydations cellulaires et les échanges gazeux respiratoires

Le rythme des oxydations cellulaires dépend de la fourniture des aliments à l'organisme. A ce propos, une distinction s'impose immédiatement. Des aliments « respiratoires », c'est-à-dire normalement et abondamment oxydés en aérobiose, comme le sont les glucides à petites molécules, peuvent l'être par l'Oxygène de l'air simplement au contact, à la surface, des organismes vivants. Ces oxydations, que PLANTEFOL L. a mis en évidence au cours de ses recherches sur les échanges gazeux de rameaux d'*Hypnum triquetrum* (1937, a et b) et de plantules vertes ou étiolées de Blé

(1938 a) préalablement immergés dans des solutions de glucose, de maltose, de saccharose, se produisent après retour dans l'atmosphère, hors du protoplasme cellulaire, du fait même du contact réalisé entre le glucide, l'Oxygène et les structures vivantes superficielles.

PLANTEFOL L. les a appelées « *oxydations extrinsèques* » et opposées aux oxydations biologiques normales, liées au fonctionnement physiologique des organismes et qui se réalisent dans les cellules, tant que l'être est vivant, en aérobiose et même en l'absence d'aliments : les *oxydations intrinsèques*.

L'intensité des oxydations n'est pas indépendante de l'âge des organismes ou des organes. GARREAU M. en 1851, faisait déjà observer que les tissus jeunes respirent plus que les autres. Ce fait a été depuis très fréquemment vérifié, en particulier à propos de l'Intensité respiratoire des feuilles dans les conditions expérimentales les plus diverses (NICOLAS G., 1918, BEZAGU M., 1919, SINGH B. N., 1935, ARNEY S. E., 1947) et PLANTEFOL L. a pu distinguer, par l'action du dinitrophénol 1-2-4 sur la respiration du *Sterigmatocystis nigra* (1922) et du tubercule de Navet (1932 a) l'existence d'oxydations liées à la croissance des organismes et d'*oxydations d'entretien* de la matière vivante. Le dinitrophénol 1-2-4, qui inhibe la croissance, suspend les premières, alors qu'il exalte les secondes. Son action n'est sensible qu'en aérobiose, elle concerne uniquement les oxydations respiratoires.

« On peut donc envisager la respiration comme la somme de deux facteurs : d'une part la respiration liée à l'entretien, d'autre part la respiration liée à la croissance. Les expériences montrent que la respiration d'entretien diminue progressivement avec l'âge de la moisissure ; le vieillissement cause, au contraire, une augmentation de la respiration liée à la croissance », écrit TAMIYA H., en conclusion d'un exposé sur le bilan matériel et l'énergétique des synthèses biologiques réalisées par les *Aspergillus* (1935).

Les oxydations respiratoires sont, dans leur nature (correspondant au Quotient respiratoire), indépendantes en première approximation des conditions externes pour un même individu vivant, à un état déterminé de son développement (BONNIER G. et MANGIN L., 1885).

Le Quotient respiratoire est lié, par contre, à la nature des substances oxydées et sa correspondance plus ou moins parfaite

avec les Quotients de combustion des métabolites présents dans un organisme (glucides : Q. C. = 1, lipides : Q. C. = 0,7, protides : Q. C. = 0,8, acides organiques, Q. C. > 1) permet d'augurer l'oxydation préférentielle de l'un d'entre eux. S'il est fréquemment voisin de l'unité, les glucides étant les « aliments respiratoires » par excellence, ses variations sont cependant très sensibles. Le Quotient respiratoire des feuilles vertes, dont l'aliment respiratoire principal est glucidique, d'origine photosynthétique, est supérieur à l'unité au début de leur développement. Puis il diminue avec l'âge croissant, ainsi que l'ont établi MAQUENNE L. et DEMOUSSY F. (1913) et BEZAGU M. (1919). La respiration des feuilles vertes est donc, pendant leur croissance, une fonction réductrice.

Par une voie différente et des analyses beaucoup plus complètes des Quotients de combustion d'organismes entiers (*Aspergillus*), de leur Quotient respiratoire et du Quotient de combustion de l'aliment fourni, TAMIYA H. (1935) parvient à la même conclusion (à la condition, bien entendu, que l'aliment fourni au Champignon ait un Quotient de combustion supérieur à lui — glucides, acides organiques —. Dans le cas contraire — alcools — la respiration, pendant la croissance, est une fonction oxydante).

La nature d'une telle réduction a été établie avec netteté par GODLEWSKI E. (1882), à propos de la genèse des lipides dans les graines oléagineuses (*Papaver somniferum*, *Ricinus communis*), au cours de leur maturation.

Les synthèses des lipides et, à propos de la croissance des organismes, celles des protides, dont les chaînons carbonés sont chez la plante verte d'origine glucidique, ont un effet direct sur les échanges gazeux respiratoires, lorsqu'elles comprennent des oxydo-réductions internes libératrices de gaz carbonique ou d'Oxygène.

On pourrait par suite être tenté de considérer que toute oxydation, toute oxydo-réduction, effectuée dans un organisme, est respiratoire dans l'exacte mesure où elle s'accompagne d'un dégagement de gaz carbonique, qu'elle utilise ou non d'ailleurs de l'Oxygène atmosphérique. De même, inversement, serait respiratoire toute oxydation, toute oxydo-réduction, comprenant une fixation d'Oxygène gazeux, avec ou sans émission de gaz carbonique, et ceci quel que soit le sort ultérieur des substances formées, qu'elles soient plus simples (dégradations) ou plus complexes (synthèses) que les corps originaux, et quel que soit également le

sort de l'énergie totale libérée au cours des réactions intermédiaires.

Ce serait oublier que la respiration est le *lien physiologique* entre l'*absorption d'Oxygène* et le *dégagement de gaz carbonique* et non la caractéristique de telle ou telle réaction biologique arbitrairement isolée de l'organisme vivant (Ceci n'est pas une simple querelle de linguiste, on lit, par exemple, trop souvent l'expression « respiration anaérobie », « anaerobic respiration » ou « anaerobe Atmung »...).

L'intervention du protoplasme, le rôle des protéines dans la respiration

GARREAU M. (1851) avait attiré l'attention sur le fait que les organes jeunes, dont l'Intensité respiratoire est la plus élevée, sont les plus riches en substances azotées. PFEFFER W., à la fin du siècle dernier, écrit dans son *Traité de Physiologie végétale* :

« La décomposition des matières albuminoïdes n'entre pas dans les échanges énergétiques de la plante si ces échanges peuvent s'accomplir par l'élaboration de corps qui ne forment pas de combinaison avec les substances protéiques ou si, quand la faculté de régénération manque, il ne se forme pas continuellement des produits azotés de décomposition » (1905, p. 566), ce qui signifie que les protéines sont d'ordinaire les éléments les plus stables du protoplasme auxquels s'ajoutent, dans un métabolisme d'entretien, des éléments plus labiles (les glucides, par exemple) seuls décomposés. Les protéines ne seraient dégradées qu'en l'absence de ces derniers.

Ce fut également l'opinion de PALLADINE W. (1893), qui constata un accroissement de l'Intensité respiratoire des plantules étiolées de Blé lorsqu'on les cultive sur milieu liquide glucosé. Le rythme des oxydations s'élève après la pénétration du glucose dans les cellules et normalement les glucides exercent une « action d'épargne » vis-à-vis des protéines au cours des dégradations respiratoires.

Les oxydations respiratoires seraient schématiquement dues à la conjonction de trois termes :

l'Oxygène, — le substrat oxydable,	— le substrat vivant, stable,
labile,	(protéique ou plus exacte-
(généralement	ment nucléoprotéique (PAL-
glucidique)	LADINE W., 1896).

ce dernier ne jouant qu'un rôle catalytique.

Les oxydations protidiques ne se manifesteraient que lorsque le taux des substances labiles est très faible.

Mais les relations entre les protéines et la respiration avaient été auparavant interprétées d'une toute autre façon, à propos du métabolisme azoté des germinations.

BORODIN I. (1876, 1878), intrigué par la décomposition protéique et l'accumulation d'amides dans les plantules de Légumineuses (les travaux de SCHULZE E. sur cette question sont antérieurs), suggéra que les protéines sont directement oxydées au cours de la respiration, que leur décomposition est primordiale, les glucides n'intervenant que dans leur régénération.

Il généralisait une idée énoncée antérieurement par BOUSSINGAULT M., qui écrivait, en 1868, à propos de l'accumulation d'asparagine dans les germinations : « L'asparagine est bien certainement formée pendant la combustion cellulaire que l'on peut appeler, sans trop d'exagération, une combustion respiratoire. »

BORODIN I. estimait probable que les activités protoplasmiques nécessitent une *décomposition et une régénération continues des protéines*. Par dégradation protéique, l'asparagine se forme. Si les cellules sont suffisamment riches en glucides métabolisables, elle se reconvertit en protéines. Si les glucides manquent, elle s'accumule.

Les points de vue de PFEFFER W. et de BORODIN I. ne sont cependant pas nécessairement absolument incompatibles. A vrai dire, ils ne s'appliquent pas au même sujet. PFEFFER W. envisage le comportement d'un protoplasme adulte, dont la masse colloïdale paraît constante et stable au cours des mesures, alors que BORODIN I. considère les germinations de graines dont les cotylédons ou l'albumen sont riches en protéines accumulées pendant leur maturation.

Au point de vue physiologique, la différence est grande entre la trame protéique ou nucléoprotéique du protoplasme et la substance fondamentale ou les cristalloïdes du grain d'aleurone.

Une hypothèse apparentée à celle de BORODIN I. a été émise par GREGORY F. G. et SEN P. K. (1937), à la suite de leurs recherches sur le métabolisme des feuilles d'Orge.

D'après ces chercheurs, les protéines protoplasmiques seraient en continuelles décomposition et reconstruction. La respiration serait liée à l'énergétique de ce cycle protéique et les glucides fourniraient les éléments carbo-hydrogénés nécessaires à la protéogenèse, tandis que les chaînons désaminés d'amido-acides seraient oxydés avec libération de gaz carbonique...

Le bilan matériel de la respiration, pour un organisme en équilibre azoté, se solderait simplement par une disparition de glucides et le Quotient respiratoire resterait voisin de l'unité grâce à la compensation réalisée dans les échanges gazeux par la réduction des chaînons glucidiques en chaînons d'amino-acides et l'oxydation de ces derniers.

* * *

Il est permis de penser qu'un tel mécanisme de rajeunissement protoplasmique, dont l'existence paraît probable au moins pour une fraction du protoplasme, ne fonctionne pas toujours sans troubles et que des « restes » moléculaires d'amino-acides ou de glucides puissent n'être qu'*incomplètement* convertis.

La réintégration de l'Azote ammoniacal dans la protéogenèse peut ne pas toujours être immédiate, et de même l'intégration de l'Azote alimentaire dans les molécules protéiques.

Les retards des synthèses par rapport aux dégradations feraient momentanément apparaître des substances azotées telles que les amides dont la genèse et la disparition peuvent troubler la constance du Quotient respiratoire (l'asparagine a un Quotient de combustion de 1,33).

De plus, l'accroissement protidique, pour un organisme chlorophyllien, doit théoriquement entraîner une élévation du Quotient respiratoire apparent, les chaînons carbonés protidiques étant empruntés aux glucides.

Peu de recherches, comportant à la fois l'étude de l'Intensité et du Quotient, ont été tentées pour suivre le retentissement du métabolisme protidique sur les échanges gazeux respiratoires.

Peu de bilans matériels, même simplement protidiques, ont.

été confrontés aux pertes que représente l'émission du gaz carbonique respiratoire.

Objet du présent travail

J'ai cherché à reconnaître les conditions dans lesquelles se manifeste le lien qui unit l'Intensité et le Quotient respiratoires au métabolisme azoté et à établir des bilans protidiques dont la comparaison avec les échanges gazeux permette l'analyse des relations qui les unissent.

Pour cette étude, j'ai choisi des feuilles appartenant à des espèces du type « amide » et à des espèces du type « ammonium ».

A ce propos, quelques explications préliminaires sont nécessaires.

1° Les amides dans la physiologie des plantes.

Ainsi qu'il a été indiqué précédemment, l'asparagine a été reconnue et située, dès l'origine, au centre du problème.

Un exposé très détaillé des questions de la formation et de la disparition des amides, ainsi que du métabolisme protidique en général a été fait par CHIBNALL A. C. (1939), aussi n'indiquerai-je que quelques points utiles à mon propos (1).

On sait, par les recherches de SCHULZE E. et de PRIANISCHNIKOV D., que l'Azote des amides peut provenir de la désamination des amino-acides, génératrice d'ammoniaque, comme de l'Ammonium alimentaire. L'origine des chaînons carbonés des amides est plus obscure. Si les amides se forment surtout en présence de glucides, il n'est pas exclu que les acides organiques et les résidus carbonés des amino-acides ne puissent prendre part à leur genèse.

En 1900, PRIANISCHNIKOV D. établit que si les températures de 20 à 29° C sont favorables à la croissance des germinations de

(1) Des revues plus récentes des travaux sur le métabolisme azoté des plantes ont été faites par PETRIE A. H. K. (1943), WOOD J. G. (1945), STEWARD F. C. et STREET H. E. (1947), NIGHTINGALE G. T. (1948), PEARSALL W. H. (1949) *, STREET H. E. (1949) *, MAC KEE H. S. (1949) *.

Les références bibliographiques signalées par le signe * concernent des travaux ou revues dont je n'ai eu connaissance qu'en cours de publication, après la soutenance de ma thèse.

Pois, celles de 35-38° C, beaucoup moins favorables, provoquent à la fois une plus grande perte de substance par respiration et un accroissement de la formation d'asparagine. Il en conclut que la formation d'amides est plus en liaison avec la respiration qu'avec la croissance.

MOTHES K. (1925, 1926) a étendu aux feuilles les interprétations de PRIANISCHNIKOV D. Adoptant son point de vue à propos du rôle de l'ammoniaque et des amides dans le métabolisme protéique (« *Vom Ammoniak kann man also sagen : er ist der erste, so auch die letzte Stufe in den Umwandlungen der stickstoffhaltigen Stoffe in den Pflanzen, Alpha und Omega dieses Prozesses ; und das Asparagin (oder das es ersetzende Glutamin) ist eine unentbehrliche Zwischenstufe wie bei dem Abbau, so auch bei dem Aufbau der Eiweisstoffe.* PRIANISCHNIKOV D., 1922), il admit que la formation des amides est une conséquence de la « respiration des protéines ».

Mais les amides ont-elles toujours une importance aussi considérable dans le métabolisme protéique végétal ?

RUHLAND W. et WETZEL K. (1926), étudiant la genèse et la disparition des acides organiques et leur retentissement sur les échanges gazeux respiratoires des feuilles de *Begonia semperflorens*, rappellent la relation directe qui existe entre le métabolisme des acides et le Quotient respiratoire. De plus, ils trouvent que ces feuilles sont extrêmement riches en Ammonium et très pauvres en amides, après un court séjour à l'obscurité. La teneur en ammonium des tissus peut également s'élever avec une nutrition Ammoniacale abondante, et les acides organiques le neutraliseraient.

Ils retrouvent, en 1927 et 1929, des phénomènes identiques avec les feuilles de *Rheum hybridum*.

RUHLAND W. et WETZEL K. estiment pouvoir distinguer deux types de plantes, suivant le mode de « neutralisation » de l'Ammonium cellulaire dans les feuilles et les plantules :

1° les plantes « amides », dans les cellules desquelles l'Ammonium est secondairement combiné sous la forme d'asparagine ou de glutamine ;

2° les plantes « ammonium », pour lesquelles les acides organiques jouent directement le rôle d'agents de neutralisation.

Au premier groupe appartiennent les Légumineuses, les Papavéracées, les Tropéolacées, les Solanacées, les Liliacées (riches en

asparagine), les Conifères (asparagine et arginine qui jouerait le même rôle, Mothes K., 1929), les Crucifères, les Caryophyllacées, les Euphorbiacées, les Chénopodiacées (glutamine; le tubercule de Betterave est un des organes les plus riches en glutamine : VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E., 1935). Enfin les Composées, les Cucurbitacées, les Ombellifères, les Graminées (plus ou moins riches en asparagine et en glutamine, suivant les espèces).

L'asparagine et la glutamine pourraient d'ailleurs se transformer l'une en l'autre dans les embryons (Mothes K., 1940).

Au second appartiennent les Polygonacées, Bégoniacées, Géraniacées, Oxalidacées...

RAHN N. (1932) établit la même distinction à propos de la pousse des bourgeons des bulbes ou rhizomes d'*Allium Cepa*, *Asparagus officinalis*, *Oxalis Deppei*, et KULTZSCHER M. (1932) l'a généralisé, essayant d'établir, de plus, un parallélisme entre la neutralisation, par les acides, de l'Ammonium et l'acidité des extraits cellulaires (« plantes acides » = « plantes ammonium ») et opposant teneur en amides et teneur en acides libres, le rapport $\frac{\text{C amides}}{\text{C NH}_3}$ dépendant du pH.

Cette distinction n'est en rien absolue, RUHLAND W. et WETZEL K. (1926) ont constaté que les feuilles adultes de *Begonia*, pauvres en acides, sont également pauvres en ion Ammonium et possèdent une teneur en amides élevée.

VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1939), ont trouvé dans les feuilles de Rhubarbe, abandonnées à l'obscurité, une grande quantité de glutamine en présence d'acides libres.

Les deux types de plantes s'opposeraient simplement par la faculté plus ou moins grande de réaliser la synthèse des amides et de les accumuler au cours de certains stades de la végétation.

De plus, l'instabilité de la glutamine peut être une des causes de l'absence apparente d'amides dans des organismes riches en acides organiques libres.

Il m'a paru intéressant de suivre avec quelque détail les variations du métabolisme des amides et leurs relations avec les échanges gazeux respiratoires, la richesse ou la pauvreté des feuilles selon les espèces, permettant de les dégager plus aisément.

2^o Le choix des feuilles.

J'ai choisi les feuilles, plus exactement les limbes foliaires, pour les raisons suivantes (1) :

L'établissement de bilans exige que l'on s'adresse à des organismes entiers ou, à défaut, à des organes isolés (les phénomènes de migration troublant les résultats obtenus avec des organes laissés adhérents aux organismes).

Les organes ont l'avantage de l'homogénéité physiologique. Parmi eux, les feuilles sont les plus pauvres en protéines inactives. Seules, ou à peu près, sont présentes les protéines cytoplasmiques, nucléaires et chloroplastiques et il est facile de choisir des feuilles pauvres en lipides (j'ai négligé les variations de ces derniers). La faible épaisseur de leurs tissus assure à toutes les cellules une oxygénation à peu près identique (NICOLAS G., 1918).

Si, dans les conditions les plus simples de culture, la survie des feuilles détachées est courte, leur métabolisme est suffisamment intense pour que, rapidement, des variations sensibles interviennent. Quoique toutes les cellules d'une même feuille soient d'un âge très voisin, une dissymétrie physiologique se manifeste par l'apparition des migrations de substances qui circulent des parties les plus âgées (sommet), vers la base de l'organe isolé, de sorte que les pétioles s'enrichissent en substances solubles.

Ces migrations ont été mises en évidence par CHIBNALL A. C. et SAHAI P. N. (1934) dans les feuilles de Capucine, par VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1939) dans les feuilles de Rhubarbe.

Enfin, les pertes d'Azote par les organes isolés sont cependant à prévoir ainsi que l'ont signalé FISCHER H., (1936) de la part des feuilles de *Nicotiana rustica*, *Phaseolus multiflorus*, *Pelargonium zonale*, *Cineraria multiflora*, *Impatiens glanduligera*, PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1937) au sujet de feuilles de Narcisse, en survie sur l'eau et MOTHES K. (1938) à propos de cultures de feuilles et de Levures.

* * *

(1) Une revue de l'utilisation des feuilles détachées en culture a été donnée récemment par YARWOOD C. E. (1946).

Je décrirai d'abord les méthodes et les techniques d'analyse que j'ai utilisées, puis j'exposerai les résultats obtenus avec des limbes maintenus à l'obscurité, en carence glucidique, et avec des limbes plus ou moins riches en glucides et carencés ou non en aliment azoté. Enfin, j'essaierai de dégager des résultats obtenus les conclusions qu'ils comportent, de les comparer avec les résultats acquis par d'autres chercheurs, et d'en proposer une interprétation cohérente.

* * *

Ces recherches ont été poursuivies au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences, à l'Ecole Normale Supérieure.

Je tiens à adresser à M. R. COMBES, Membre de l'Institut, Professeur de Physiologie végétale à la Sorbonne, qui m'a fait l'honneur de présider la soutenance de cette thèse, l'expression de ma respectueuse gratitude pour les conseils éclairés qu'il m'a donnés et pour la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée.

J'exprime à M. L. PLANTEFOL, Professeur de Botanique à la Sorbonne, qui m'a accueilli dans son laboratoire et a suivi les progrès de mon travail, ma profonde reconnaissance et ma respectueuse affection pour les conseils et les encouragements qu'il m'a prodigués, l'intérêt qu'il a porté à mes recherches et la sollicitude qu'il n'a cessé de me témoigner.

Que M. E. AUBEL, Professeur de Chimie biologique à la Sorbonne, qui a accepté de faire partie de mon jury, veuille bien trouver ici mes sincères remerciements.

Je remercie également M. R. QUETEL, Chef de Travaux à la Faculté des Sciences, qui m'a souvent conseillé et dont l'amitié m'est si précieuse.

Je tiens à exprimer à MM. les Administrateurs du Centre National de la Recherche Scientifique ma profonde gratitude pour leur aide matérielle qui m'a permis d'effectuer ce travail.

Ce mémoire a été imprimé grâce à une subvention du Ministère de l'Education Nationale. J'adresse mes remerciements à M. R. COMBES et aux Membres du Conseil de la Faculté des Sciences de Paris qui ont bien voulu le proposer au bénéfice de cette subvention.



CHAPITRE I

Méthodes et Techniques

1. Origine et choix des feuilles

Les plantes dont les feuilles ont été utilisées dans le présent travail appartiennent aux espèces et variétés suivantes :

1^o BLÉ FYLGIA (de printemps). Ce Blé, originaire de la station de Svalöf, provient d'une lignée pure de l'espèce *Triticum vulgare* Vill.

L'axe principal de ce Blé porte généralement 6 feuilles vraies dont les longueurs moyennes, comme celles des feuilles de la plupart des variétés de *Triticum vulgare*, s'échelonnent de 28 cm (1^{re} feuille) à 35 cm (5^e feuille), lorsque la culture est faite en plein champ (cf. PERCIVAL J., 1921).

Le choix d'échantillons de feuilles homogènes est facile, les lots sont composés de feuilles portées par l'axe principal, de même numéro d'ordre d'apparition et de longueur sensiblement égale.

Le Blé est une plante du type « *amide* », ses plantules sont riches à la fois en glutamine et en asparagine.

2^o HARICOT D'ESPAGNE, variété « BLANC » (Vilmorin). Il s'agit d'une population homogène appartenant à l'espèce *Phaseolus multiflorus* Willd.

Seules, les folioles latérales des feuilles des rameaux grimpants, de même numéro compté à partir du sommet, sensiblement de même taille et de même teinte ont été utilisées.

Le Haricot est une plante du type « *amide* », ses plantules et ses feuilles sont riches en asparagine.

3^o SARRASIN « GRIS ARGENTÉ » (Vilmorin). Ce Sarrasin appartient à une population homogène de l'espèce *Polygonum Fago-*

pyrum L. L'échantillonnage est fait en choisissant les feuilles saines de même numéro d'ordre, comptées à partir de la base, de même surface et de même teinte.

Le Sarrasin est une plante du type « *ammonium* », pauvre en amides. Le Sarrasin est riche en oxalates, en particulier en oxalate de calcium.

4° OSEILLE. Les feuilles sont prélevées sur des souches appartenant à un même clone de l'espèce *Rumex Acetosa* L. Elles sont choisies de même longueur, de même surface et de même teinte.

L'Oseille appartient au groupe de plantes du type « *ammonium* ». C'est de plus une plante riche à la fois en oxalate de calcium et en oxalates solubles neutres ou acides et renfermant même de l'acide oxalique libre.

Toutes les cultures ont été faites dans le Jardin de l'Ecole Normale Supérieure, à Paris.

Les feuilles ont été récoltées, pour chaque expérience, le même jour et en même temps. De ce fait, les variations diurnes des échanges gazeux respiratoires (MEYER A. et DELEANO N. T., 1911, 1913), du taux et de la composition des substances azotées (CHIBNALL A. C., 1923, 1924 a), des glucides (MILLER E. C., 1924), des acides organiques des feuilles (ASTRUC A., 1903), sont parfaitement négligeables.

L'observation de règles strictes dans le choix des échantillons et la récolte est importante, ainsi que l'ont signalé LAGATU H. et MAUME L. (1929) et tout récemment VICKERY H. B., LEAVENWORTH C. S. et BLISS C. I. (1949).

2. Traitement des feuilles

Après leur prélèvement, les feuilles (limbe et fragment de pétiole seulement) sont lavées rapidement dans une solution d'hypochlorite de calcium à 6 %, puis rincées à l'eau distillée, afin de réduire les risques d'attaque fongique ou bactérienne (WILSON J. K., 1915).

Elles sont disposées dans des bacs parallépipédiques, en zinc, de 40 cm × 30 cm et de 8 cm de hauteur, le pétiole ou l'extrémité inférieure trempant dans le milieu liquide de culture choisi. Des

baguettes de verre contre lesquelles elles s'appuient, maintiennent les feuilles dressées.

Les conditions particulières, propres à chaque expérience, seront précisées ultérieurement.

Les manipulations des feuilles sont réduites au minimum. Les traumatismes (le prélèvement en entraîne déjà nécessairement un) ont de multiples conséquences :

1° Les coupures, écrasements de cellules, provoquent une lyse importante des substances azotées, dont les résultats sont perceptibles quelques heures après l'excitation (COMBES R., 1928, *a* et *b*).

2° Les traumatismes violents déterminent une augmentation de l'intensité des échanges gazeux respiratoires. De plus, les simples torsions ou frottements des limbes s'accompagnent également d'une accélération sensible des oxydations, l'intensité des échanges gazeux pouvant être plus que doublée lorsque les feuilles sont riches en glucides. Cette stimulation affecte aussi bien les feuilles charnues que les feuilles coriaces, les feuilles pauvres que les feuilles riches en eau (AUDUS L. J., 1935, 1939, 1941, GODWIN H., 1935).

Le retour à l'intensité normale demande toujours plusieurs heures. Les analyses ont toujours été faites au minimum 6 h. après le prélèvement.

3. Analyse des échanges gazeux respiratoires

J'ai utilisé les méthodes d'analyse des gaz mises au point par PLANTEFOL L.

Chaque lot d'organes est placé en atmosphère confinée, dans une enceinte respiratoire — ampoule ou flacon — munie d'un large bouchon à rodage et d'un robinet. En même temps, il est ajouté dans l'enceinte un morceau de papier buvard imbibé d'eau destinée à assurer la saturation de l'atmosphère en vapeur d'eau. Les enceintes sont placées, robinet ouvert, dans un grand exsiccateur, le vide est fait, puis l'air réintroduit, de sorte que sa composition se trouve être la même dans toutes les enceintes. En même temps, une ou plusieurs prises d'air sont faites dans les mêmes conditions, qui serviront à déterminer la composition initiale de l'atmosphère confinée.

Les enceintes sont transportées à l'obscurité, dans un local à température constante ou dans un thermostat.

Le temps de séjour à l'obscurité ainsi que la quantité d'organes introduits sont déterminés par un essai préalable, de sorte que l'atmosphère interne en fin d'expérience renferme au moins 1 % et au plus 2 % de CO_2 , et au minimum 18 % d' O_2 , lorsque l'analyse ultérieure est faite avec l'eudiomètre simplifié de PLANTEFOL L. (1933). (Expériences I, II, III, et IV). Dans les expériences suivantes, V à IX, l'analyse étant faite avec l'eudiomètre de précision (PLANTEFOL L., 1932), le temps fut calculé de manière que la teneur en CO_2 ne dépasse pas 1 %.

Les gaz sont extraits des enceintes à l'aide de l'appareil universel d'extraction et recueillis dans une ampoule à deux robinets. Lorsque l'extraction est totale, le volume de l'ampoule à deux robinets et la pression des gaz recueillis, déterminée par comparaison avec la pression atmosphérique au moyen d'un manomètre comparateur (PLANTEFOL L. et MOYSE A., 1948), permettent de connaître la quantité de gaz en fin d'expérience. Lorsque l'extraction des gaz n'est que partielle, leur pression est déterminée dans l'enceinte même, comme dans le cas précédent, et le volume est celui de l'enceinte diminué d'un nombre de cm_3 égal au poids en g. des organes et du papier introduits. Après déduction de la vapeur d'eau présente à la température ambiante, les volumes gazeux en fin d'expérience sont exprimés à $T = 0^\circ \text{C}$, $H = 760 \text{ mm. Hg}$.

Le fait de soumettre les organes à l'extraction préalable de l'atmosphère et à des extractions successives en cours d'expérience peut avoir dans certains cas une influence fâcheuse, si le séjour dans le vide est long (CHEVILLARD L., MAYER A. et PLANTEFOL L., 1932). Un séjour même très bref est préjudiciable au développement des cultures de tissus « *in vitro* », dont la prolifération est interrompue après une extraction des gaz, la pression dans l'enceinte étant abaissée à 80 mm. Hg. (PLANTEFOL L., 1938 b). Les cultures se maintiennent toutefois parfaitement en vie.

Il est peu probable que l'extraction présente ici un grave inconvénient. La croissance des feuilles est pratiquement nulle. On verra de plus que le caractère total ou partiel des extractions ne modifie pas l'allure générale du métabolisme foliaire.

4. Analyse des constituants azotés

Les méthodes suivies à ce sujet sont pour la plupart empruntées aux biochimistes anglais, CHIBNALL A. C. et coll., ou américains, VICKERY H. B. et coll. J'en ai partiellement décrit l'adaptation à propos d'un travail d'essais préliminaires (MOYSE A., 1946 a).

1. *Dessiccation des organes.*

Les feuilles, dont la surface s'est débarrassée de l'eau de lavage pendant la période de repos, sont pesées à l'état frais, puis desséchées. La dessiccation est amorcée par un séjour d'une heure à l'étuve ventilée par aspiration de l'air, à la température de 67-68°C.

VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. (1935), PUCHER G. W., VICKERY H. B. et LEAVENWORTH C. S. (1935) ont insisté sur la nécessité d'opérer dans le minimum de temps et à une température aussi basse que possible, assurant toutefois la coagulation et par suite la stabilisation des protéines.

Ces auteurs ont montré qu'à la température de 85-86°C., la dessiccation s'accompagne d'une transformation partielle de la glutamine, avec libération de NH_3 . En 2 h. 1/2, dans un mélange de tourbe et de glutamine, 20 % de ce dernier corps ont disparu. A la température de 68-69°C., un séjour de 90 minutes entraîne moins de 3 à 5 % de pertes d'Azote de cette amide instable (1).

La dessiccation est ensuite poursuivie dans le vide, en présence de P_2O_5 ou de CaCl_2 , à la température du laboratoire. Le traitement à l'étuve des feuilles minces, coupées en menus fragments ou entières, provoque le départ d'environ 85 à 90 % de l'eau. Après deux mois de séjour dans le vide, la perte d'eau est de 99,5 % environ, une perte de 100 % correspondant à la perte de poids obtenue par un séjour de 4 h. à 105-110°C. Cette perte de 100 % comprend vraisemblablement, en plus du départ de l'eau, celui de substances organiques volatiles (PLANTEFOL L., 1927). Il est vraisemblable que les feuilles ainsi traitées présentent, par rapport aux feuilles

(1) REIFER I. et MELVILLE J. (1949)* ont signalé que le chauffage à 80°C pouvait s'accompagner d'une destruction de l'urée, dans les feuilles de Ray-grass, avec libération d'ammoniaque.

sur pied, une légère protéolyse, puisque même la fixation rapide par congélation en entraîne une (CHIBNALL A. C., 1922 b).

2. *Extraction des composées azotés solubles.*

Les tissus secs (2 à 3 g.) sont broyés au mortier, réduits en poudre fine et traités par l'eau (VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. et CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G., 1935) (Blé) ou l'alcool à 50° (Sarrasin, Haricot, Oseille), à chaud (80°C).

L'alcool à 50° (OSBORNE T. B., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S., 1922, DENNY F. E., 1929) permet une filtration plus aisée des extraits, lorsque les tissus renferment en abondance de l'amidon ou des matières gélifiables.

Dans les deux cas, le mode opératoire est le même : macération à 80°C au bain-marie. Après 5 minutes, la suspension est refroidie, elle se décante et le liquide est filtré sur Buchner, avec légère aspiration. La poudre est reprise deux fois par l'eau ou l'alcool à 50° pendant 2 minutes, la fraction insoluble est lavée ensuite à chaud sur le filtre. Au cours de l'extraction le titre de l'alcool s'abaisse à 40° environ et il n'est pratiquement pas extrait de chlorophylle.

L'extraction étant faite par un volume de liquide au moins 10 fois plus grand que celui de la poudre, l'épuisement des tissus est complet (RICHARDSON G. M., 1934). Un essai d'extraction par l'acide trichloracétique ne fournit plus de substance azotée.

Ces solvants ont l'avantage d'être neutres (1) et de ne pas provoquer d'hydrolyse des substances azotées instables au cours de l'extraction, comme on peut le redouter avec les liqueurs acides (BERTHELOT M. et ANDRE G., 1886 b).

Dans une partie aliquote de l'extrait total, les protéines qui ont pu être dissoutes par les solvants sont précipitées par l'acide trichloracétique amené à la concentration de 10 %. Ce déféquant est plus actif que l'alcool lui-même ajouté postérieurement à l'extraction aqueuse par exemple, ainsi que le préconise VICKERY H. B. (1924). La correction en est faite à la fois pour le calcul de l'N protéique et pour celui de l'N soluble total. Elle est toujours très faible. Le volume de l'extrait est complété à 100 cm³ après

(1) En fait, le liquide extrait est presque toujours légèrement acide, probablement par suite d'un léger excès des acides organiques cellulaires.

refroidissement et les dosages des formes solubles azotées suivantes sont faits par semi-microméthodes.

N soluble total : 20 cm ³	N amidé instable : 10 cm ³
N ammoniacal : 10 cm ³	N du précipité phosphotungstique : 10 cm ³
N nitrique : 10 + 10 cm ³	N du précipité trichloracétique : 10 cm ³
N amidé total : 10 cm ³	N aminé : 8 cm ³

Quelques gouttes sont utilisées pour la caractérisation qualitative de l'ion NO₃⁻.

3. Dosage de l'Azote protéique.

Le résidu insoluble après extraction est traité, selon KJELDAHL, par l'acide sulfurique à chaud en présence du catalyseur au sélénite de Mercure de DUMAZERT C. et MARCELET Y. (1938).

Le chauffage, au seuil de l'ébullition, est poursuivi pendant 6 heures après la décoloration complète du contenu des matras (1).

La distillation est faite dans l'appareil de PARNAS et WAGNER. L'ammoniaque est recueillie dans SO₄H₂ N/35 dont l'excès est titré en retour à l'aide d'une liqueur sodique N/35, en présence de rouge de méthyle comme indicateur.

Le précipité trichloracétique de la fraction soluble est traité, après filtration, de la même manière, l'Azote trouvé est ajouté à l'Azote de la fraction protéique et déduit de l'Azote de la fraction soluble.

4. Dosage de l'Azote soluble total.

La fraction de la liqueur est d'abord traitée par l'acide phényl-sulfurique en présence de poudre de Zinc pendant 24 h., afin d'assurer la réduction totale de l'ion nitrique (KJELDAHL-JOLD-BAUER). La minéralisation et le dosage sont effectués ensuite comme il est décrit ci-dessus, à propos de l'Azote protéique.

(1) La minéralisation n'est pas totale après la décoloration du contenu des matras, même en présence de catalyseur au Sélénium (cf. CHIBNALL A. C., REES M. W. et WILLIAMS E. F., 1943).

5. *Dosage de l'Azote ammoniacal.*

La teneur en N ammoniacal est obtenue par distillation de la liqueur et entraînement par la vapeur d'eau dans l'appareil d'YOVANOVITCH A. (1925), après l'avoir rendue alcaline par addition de quelques cm^3 d'une solution saturée de carbonate de Lithium, en présence de phénolphthaléine. La distillation est faite à une température inférieure à 70°C , sous pression réduite, pendant 10 minutes (voir BACH D., 1932) et l'ammoniaque recueillie dans une solution $\text{SO}_4 \text{ H}_2 \text{ N}/35$ (1).

6. *Dosage de l'Azote nitrique.*

L'ion nitrique est dosé par la méthode de BACH D. (1933). Une première distillation est faite à 70°C sous pression réduite, comme pour le dosage de l' NH_3 , mais en liqueur alcalinisée par NaOH (1 cm^3 NaOH 2N pour 10 cm^3 de liqueur).

Une seconde est faite dans les mêmes conditions, mais en présence d'alliage de Devarda (0 gr. 50). Si, dans l'ampoule à réaction, la mousse devient trop abondante, on ajoute quelques gouttes d'alcool amylique tertiaire. Par différence entre les deux résultats d'analyse, corrigée de la teneur en Azote de l'alliage, on obtient l'N nitrique.

La présence de nitrates est préalablement vérifiée par la coloration rouge qu'ils donnent avec la brucine en liqueur sulfurique. (KLEIN G., 1932 III). Il n'y a pratiquement pas de nitrites dans les feuilles (cf. CHIBNALL A. C., 1922 a).

7. *Dosage de l'Azote amidé total.*

L'Azote amidé est transformé en NH_3 par la méthode de VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. et CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G. (1935). La liqueur, additionnée d'acide sulfurique 6 N jusqu'à la normalité, est mise au bain-marie à l'ébullition pendant 3 heures. L'allantoïne, éventuellement présente en très petite quantité, n'est pratiquement pas hydrolysée dans ces condi-

(1) Il est probable qu'une partie de l'ammoniaque dosée provient de la décomposition de substances instables.

tions. L'hydrolyse est faite dans un tube en Pyrex, cylindrique, de 4 cm. de diamètre et 20 cm. de hauteur, bouché et surmonté d'un tube de verre d'environ 1 m. de long, assurant la condensation des vapeurs.

Cette méthode est préférable à celle de SACHSSE dont CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G. (1932), après VICKERY H. B. et PUCHER G. W. (1931), ont fait la critique. D'après ces derniers auteurs, l'hydrolyse par HCl préconisée par SACHSSE s'accompagne d'une réduction partielle des nitrates, d'une oxydation partielle de NH_3 , et ne peut donner de bons résultats que par compensation des erreurs.

La liqueur est ensuite presque neutralisée, en présence de Bleu de Bromothymol (virage au vert), et l' NH_3 distillée dans l'appareil d'YOVANOVITCH, après alcalinisation par quelques gouttes d'une solution de 5 g. de borate de Sodium dans 100 cm^3 de Na OH 0,5 N. La quantité de NH_3 préexistante est déduite du nombre obtenu.

8. Dosage de l'Azote amidé instable (glutamine).

L'Azote amidé de la glutamine est transformé en NH_3 par hydrolyse à $\text{pH} = 6,5$, d'après VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. et CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G. (1935), alors que dans ces conditions l'asparagine (amide plus stable) n'est pas hydrolysée.

La liqueur est additionnée de 20 cm^3 d'une solution tampon 0,1 M de phosphate monopotassique et 0,05 M de borate de Sodium, en présence de Bleu de Bromothymol (virée au vert s'il est nécessaire par quelques gouttes de solution $\text{SO}_4 \text{H}_2$ ou Na OH N/35).

L'hydrolyse est poursuivie pendant 3 heures, à l'ébullition au bain-marie. Il est utile de s'assurer que la liqueur reste légèrement acide.

L' NH_3 est ensuite distillée comme il est décrit précédemment. La quantité de NH_3 préexistante est déduite du nombre obtenu.

La quantité d'Azote amidé stable (asparagine) est calculée par différence. L' N total des amides instables, représenté dans les tableaux, est égal au double de l' N amidé instable. Il en est de même pour l' N total des amides stables, qui correspond au double de l' N amidé stable.

9. Dosage de l'Azote aminé.

L'Azote aminé a été dosé par la méthode eudiométrique de VAN SLYKE D. D. (1911-1912), dans laquelle l'N aminé est libéré à l'état d'N gazeux par réaction avec le bioxyde d'Azote obtenu par action de l'acide acétique sur le nitrite de sodium.

Pour diminuer les erreurs en excès dues à la présence de glycocolle (1) et de cystine dans les liqueurs, l'acide acétique est additionné de 2 % de KI selon KENDRICK A. B. et HANKE M. E. (1937). L'alcool de la liqueur, qui provoquerait un dégagement gazeux extrêmement abondant, est préalablement chassé par évaporation rapide sous vide.

RICHARDSON G. M. (1934) a fait une étude critique détaillée de cette méthode appliquée aux extraits végétaux. Après avoir rappelé que le glycocolle, la cystine, le tryptophane, l'arginine, la lysine, la glutamine et divers peptides ne réagissent pas exactement quantitativement, que l'ammoniaque, l'urée, l'allantoïne, la créatinine, les bases puriques réagissent partiellement avec dégagement d'Azote, que par contre la proline et l'oxyproline y échappent, il lui donne cependant la préférence sur les méthodes de SÖRENSEN (dosage volumétrique de l'acidité en présence de formol) ou de WILLSTÄTTER R. et WALDSCHMIDT E. (1921), FOREMAN F. W. (1920), LINDERSTRÖM-LANG K. (1928), (dosage volumétrique de l'alcalinité en présence d'alcool ou d'acétone), méthodes qui manquent de spécificité et sont d'un usage malaisé avec des liquides naturellement colorés (2). Afin d'obtenir des résultats comparables, la réaction a toujours été réalisée en 5 minutes à la température de 20-22° C.

De l'Azote aminé ainsi obtenu est déduite la quantité d'Azote

(1) Le glycocolle donne un chiffre beaucoup trop élevé : jusqu'à 140 %, ainsi que la glycyglycine : 162 % du chiffre théorique. VISCONTINI M. (1945).

(2) Je n'ai pas retenu la méthode de POLONOVSKI M. (1937) (voir également BOULANGER P., DEWEZ A. et CATTEAU A. (1942)), basée sur la libération de NH_3 en présence d'hypochlorite, et qui, à ma connaissance, n'a jamais été appliquée aux extraits végétaux. J'ignorai, quand j'ai commencé ce travail, l'existence de la méthode de VAN SLYKE D. D., MAC FAYDEN D. A. et HAMILTON P. (1941), peut-être plus précise, basée sur la formation de CO_2 que libèrent les acides aminés en présence de ninhydrine. La quasi impossibilité de se procurer alors ce dernier corps rendait d'ailleurs son emploi illusoire.

amidé correspondant à la glutamine et qui réagit totalement comme Azote aminé dans la méthode de VAN SLYKE (VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. et CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G., 1935). Aucune correction n'est faite pour l'ammoniaque, qui ne réagit que très lentement. (IRVING G. W. jr., FONTAINE T. D. et SAMUELS C. S., 1944).

Dans l'expression des résultats, N des amino-acides correspond à l'N aminé diminué d'une quantité égale à l'N amidé total, afin de ne tenir compte que de l'N appartenant à des *amino-acides* réels et non aux amides telles que l'asparagine ou la glutamine.

10. Dosage de l'Azote polypeptidique.

L'Azote polypeptidique est obtenu selon DELAUNAY H. (1927) par différence entre l'N du précipité phosphotungstique et celui du précipité trichloracétique. Comme l'ont fait remarquer BOULANGER P., DEWEZ A. et CATTEAU A. (1942) et BOULANGER P. (1943), cette méthode donne des résultats un peu trop élevés, le réactif phosphotungstique précipitant à la fois les polypeptides, les bases puriques, l'acide urique, les acides diaminés (bases hexoniques), la cystine, l'ammoniaque.

Toutefois, les quantités de ces différents corps étant faibles, on peut admettre que, correction faite de l' NH_3 préexistante, les chiffres obtenus sont proportionnels à la teneur en Azote polypeptidique.

11. Valeur des résultats obtenus dans les analyses d'Azote.

Les résultats obtenus par ces différentes méthodes sont hétérogènes quant à leur précision. Si les chiffres d'Azote protéique et d'Azote soluble total sont d'une précision satisfaisante (1-2 %) il est certain que les autres le sont beaucoup moins, ceci tenant soit à la faible quantité de la forme azotée trouvée (NH_3 , NO_3^-), soit à l'imprécision de la méthode même, lorsque les quantités trouvées sont grandes (N amidé, N aminé, N polypeptidique).

Compte tenu des variations individuelles, les variations isolées inférieures à $\pm 5\%$ pour l'N protéique et l'N soluble, et à $\pm 10\%$ pour les autres formes, ne sont pas interprétables.

La somme des différentes formes solubles dosées dans l'extrait :

$N NH_3 + N NO_3^- + N \text{ amidé} + N \text{ aminé} + N \text{ polypeptidique}$, est toujours très voisine de l'N soluble obtenu directement après minéralisation KJELDAHL. Elle est souvent légèrement inférieure, parfois légèrement supérieure.

CRUICKSHANK D. H. et WOOD J. G. (1945) qui ont dosé les mêmes formes à partir de feuilles, dans des conditions expérimentales voisines, ont montré qu'elles atteignaient, en y comprenant l'N protéique, au moins 90 % de l'N total. Les autres corps, dont la présence est connue dans les feuilles, comme la bétaine, la choline (CRUICKSHANK D. H. et WOOD J. G., 1945), l'allantoïne, l'acide allantoïque (BRUNEL A. et CAPELLE G., 1947), l'hydroxylamine (LEMOIGNE M., MONTGUILLON P. et DESVEAUX R., 1937) ne s'y trouvent qu'à l'état de traces.

5. Analyse des différentes fractions glucidiques

Les variations globales subies par les glucides solubles, réducteurs libres et réducteurs totaux après hydrolyse, et par les glucides insolubles dans les liquides cellulaires, amidon, matières pectiques, pouvant être hydrolysés dans les diverses phases de la physiologie des feuilles détachées, ont été suivies.

De même que pour les analyses des formes azotées, je n'ai utilisé, pour des raisons d'ordre pratique, qu'une technique identique dans chaque cas, malgré la diversité des espèces dont les feuilles furent soumises à l'analyse.

Les techniques de fixation et d'extraction sont celles de BOURQUELOT telles qu'elles ont été mises au point et décrites par MEUNIER A. (1933) en ce qui concerne les glucides solubles et QUETEL R. (1938) pour les glucides insolubles, avec seulement quelques modifications de détail.

1. Fixation. Extraction des glucides solubles.

Les organes récoltés (de 20 à 50 g. selon le type d'expérience) sont pesés à l'état frais, hachés en menus fragments, et jetés dans l'alcool à 95° bouillant, additionné de CO_2 Ca précipité. L'ébullition est maintenue pendant 15 minutes, au-bain-marie. L'alcool de fixation est décanté dans un ballon à col muni d'une tubulure

latérale. Le résidu solide, séché sous vide, à froid, est réduit en poudre fine au mortier puis mis en suspension dans de l'alcool à 60°, toujours en présence d'un peu de CO_2 Ca précipité. Le liquide est porté à l'ébullition pendant 20 minutes, décanté et ajouté à l'alcool de fixation après refroidissement. Une dernière extraction est effectuée dans les mêmes conditions.

Les trois extraits étant réunis, l'alcool est éliminé par distillation à une température inférieure à 60° C, sous pression réduite, jusqu'à ce qu'il ne reste plus dans le ballon qu'un résidu sirupeux non alcoolisé.

Ce résidu est repris par l'eau tiède en plusieurs fois et filtré. La liqueur obtenue (environ 60 cm³) est déféquée au sous-acétate de Plomb basique (36° B) ajouté en quantité juste suffisante. « Le déféquant doit être ajouté en quantité minima pour que le précipité soit total, tout excès de sous-acétate faussant irrémédiablement les résultats » (QUETEL R., 1938).

Après dépôt du précipité plombique, la liqueur est décantée, filtrée sur entonnoir de BUCHNER, essorée à la trompe à eau, et le précipité lavé sur le filtre à plusieurs reprises avec de l'eau chaude.

La liqueur parfaitement limpide est complétée à un volume déterminé.

2. *Traitement de l'extrait des glucides solubles.*

Dans une première portion, destinée au dosage direct des glucides réducteurs libres, le léger excès de Plomb est éliminé par précipitation au moyen de quelques gouttes d'une solution de phosphate disodique saturée au 1/3. La liqueur est filtrée et additionnée d'une goutte de toluène pour prévenir toute contamination.

Dans l'autre portion, destinée à l'hydrolyse des glucides solubles non réducteurs et au dosage de la totalité des glucides extraits, l'excès de Plomb est précipité par quelques gouttes d'acide sulfurique dilué, puis la liqueur est filtrée.

Elle est additionnée d'acide chlorhydrique jusqu'à atteindre une concentration de 0,5 % et portée à l'ébullition au bain-marie pendant 10 minutes, selon DE CUGNAC A. (1931). Après neutralisation en présence d'alizarine, la liqueur est complétée à un volume déterminé avec de l'eau et additionnée d'une goutte de toluène.

3. *Extraction des « glucides insolubles ».*

a) *Par l'eau froide.* La poudre d'organes récupérée après l'extraction alcoolique, est séchée sous vide, reprise par l'eau, et abandonnée à la température de 25° C pendant 7 jours. La liqueur obtenue, filtrée, renferme les pectines, polyuronates et acides polyuroniques désignés autrefois sous l'expression générique de « matières pectiques » (BEAUQUESNE L., 1946, FOURNIER P., 1948). Traitée à la température de 120°C à l'autoclave, pendant 20 minutes, en présence d'acide chlorhydrique au taux de 2 %, cette liqueur fournit le maximum de glucides réducteurs.

b) *Par l'eau chaude.* Le résidu est repris à nouveau par l'eau et porté à l'ébullition pendant 20 minutes. L'amidon, dont la présence ou l'absence est contrôlée par examen microscopique des organes frais, est transformé en empois, le cas échéant. De plus, des polyuronates solubles dans l'eau bouillante sont extraits (hémicelluloses).

La liqueur séparée est soumise à l'hydrolyse, comme la précédente. Les réactions de BERTRAND (orcine en milieu chlorhydrique) et de SELIWANOFF (résorcine en milieu chlorhydrique) ont permis de caractériser, dans ces extraits, la présence de pentoses ou de méthylpentoses, d'aldoses ou de cétooses.

4. *Dosage des glucides réducteurs obtenus.*

Les glucides réducteurs sont dosés par la méthode de BERTRAND, chaque fois qu'ils se trouvent en quantité suffisante. Lorsque les quantités sont trop faibles, les dosages sont effectués par la microméthode de SOMOGYI M. (1937). La liqueur est alors traitée par un réactif cupro-alcalin à l'ébullition (10 minutes) en présence d'iodure et d'iodate de Potassium en excès. Après refroidissement et acidification, l'Iode libéré oxyde l'oxydure formé au cours de l'oxydation des glucides. L'Iode en excès est dosé à l'aide d'une solution d'hyposulfite de Sodium 0,005 N fraîchement préparée par dilution d'une solution N/10.

Cette technique permet de doser des quantités de glucides réducteurs de 0 à 2 mg. dans 5 cm³ de liqueur.

Il est indispensable de bien boucher les tubes dans lesquels est

faite la réaction de Fehling, dès que l'ébullition cesse, et de les refroidir rapidement, pour éviter l'oxydation parasite de l'oxydule par l'Oxygène de l'air.

Voici les résultats de l'emploi de cette technique, comparée à celle de BERTRAND (Tableau 1) (Solution de glucose à 51 mg. dans 20 cm³, soit, après dilution 10 fois : 1 mg. 28 dans 5 cm³).

TABLEAU 1

Tube bouché						Tube non bouché
refroidissement dans l'eau glacée		refroidissement dans l'eau à la T. ordin.				refroidissement dans l'eau à la T. ordin.
2 min. 1,27	5 min. 1,29	5 min. 1,28	10 m. 1,30	15 m. 1,29	20 m. 1,17	5 min. 1,04

Les résultats des analyses de glucides sont toujours exprimés en glucose.

6. Analyse de l'ion oxalique

1. Extraction.

L'acide oxalique libre et les oxalates solubles d'une part, l'acide oxalique des oxalates insolubles d'autre part, ont été extraits par la méthode de BERTHELOT M. et ANDRÉ G. (1885), appliquée comme l'indique KLEIN G. (1932 II) à la substance sèche.

Les organes sont desséchés dans les mêmes conditions que ceux utilisés pour les dosages d'Azote (1 à 2 g. de substance sèche), puis broyés au mortier en poudre fine.

La poudre est traitée par l'eau (50 cm³) ou l'alcool à 50°, si la liqueur aqueuse filtre mal, à l'ébullition au bain-marie pendant une heure.

Après refroidissement et macération pendant deux heures, le liquide clair est filtré sur Buchner et le résidu est traité à nouveau de la même façon. Les deux extraits sont joints, ils renferment l'acide libre et les oxalates solubles. Le résidu est traité par une solution chlorhydrique à 4 % dans les mêmes conditions, afin d'extraire l'oxalate de Calcium.

2. Dosage.

Dans chacun des cas, les deux extraits respectifs sont joints, réduits à 50 cm³ par évaporation à 70°C et neutralisés par NH₄ OH en présence de rouge de méthyle. 5 cm³ de solution d'acide borique à saturation sont ajoutés pour empêcher la précipitation ultérieure des citrate, tartrate et malate de Calcium, puis 10 cm³ d'une solution de chlorure de Calcium à 10 % et 5 cm³ d'acide acétique glacial. L'oxalate de Calcium précipite et, pour rassembler le précipité, la liqueur est portée à l'ébullition puis abandonnée pendant au moins une heure. Elle est filtrée et le précipité dissout ensuite sur le filtre par une solution d'acide chlorhydrique à 1 %. Le précipité est reformé par alcalinisation à l'aide de l'ammoniaque puis addition d'acide acétique, recueilli sur un filtre et lavé avec une solution acétique à 10 % très chaude.

Il est enfin dissout à chaud dans une solution d'acide sulfurique à 10 % et la quantité d'ion oxalique est dosée à l'aide d'une solution de permanganate de Potassium N/10, dont 1 cm³ correspond à 4 mg.5 d'acide oxalique anhydre.

Les résultats sont exprimés en acide anhydre.

7. Expression des résultats des analyses

Les résultats concernant les échanges gazeux respiratoires dans les expériences I, II, III, IV et VI, l'Azote et l'ion oxalique dans toutes les expériences, sont obtenus directement par rapport au poids de substance sèche utilisée, les résultats concernant les glucides sont toujours obtenus directement par rapport à un poids de substance fraîche. Enfin, les résultats des analyses des échanges gazeux dans les expériences V, VII, VIII et IX, ont trait, dans chacune d'elles, à un même lot suivi au cours du temps.

Afin d'homogénéiser le mode d'expression et de tenir compte des variations de poids sec et de poids frais au cours du temps, tous les résultats sont calculés par rapport à un nombre fixe d'organes dont les variations de poids frais ont été suivies, et les variations de poids sec calculées d'après la teneur en eau de lots identiques.

Ce résultat est obtenu de la façon suivante : les teneurs par rapport au poids de substance fraîche (ou au poids de substance sèche)

sont multipliées par le poids de substance fraîche (ou le poids de substance sèche) du lot type correspondant.

Ainsi que l'indique le tableau suivant pour les teneurs en Azote, les variations individuelles qui peuvent être considérables entre lots différents d'organes du même âge, quand ces lots comprennent peu d'organes, sont beaucoup moins importantes si les comparaisons sont faites sur les bases du poids de substance sèche (P. S.) ou du poids de substance fraîche (P. F.).

TABLEAU 2

Analyses de l'Azote total de 3 lots de limbes de même âge.

1. Blé : 10 limbes de feuilles n° 4, 12 à 15 cm. de longueur.

Lots	P. F. en mg.	P. S. en mg.	H ₂ O % P. S.	N total en mg.	Ecart par rapp. à la moyenne %	N % P. F.	Ecart par rapp. à la moyenne %	N % P. S.	Ecart par rapp. à la moyenne %
1	1.189	210,5	464	10,68	—5,3	0,898	+1,1	5,073	+0,23
2	1.400	241	481	12,20	+8,1	0,871	—1,9	5,062	+0,02
3	1.222	217,5	462	10,98	—2,7	0,897	+1,0	5,048	—0,25
Moyenne	1.270	223	469	11,28		0,888		5,061	

2. Oseille : 4 limbes à bord enroulé, 4 à 5 cm. de longueur.

1	1.696	158,5	969	9,92	—7,9	0,591	—0,5	6,246	+1,9
2	1.851	178	940	10,70	—0,6	0,578	—2,7	6,011	—1,9
3	1.987	191	931	11,71	+8,7	0,612	+3,0	6,125	—0,03
Moyenne	1.845	176	947	10,77		0,594		6,127	

*Calcul des teneurs en Protides correspondant en poids
aux différentes formes d'N.*

Ces calculs sont faits sur les bases suivantes :

Les quantités de protéines et de polypeptides sont obtenues en multipliant les teneurs en N protéique et polypeptidique par le coefficient 6,25 (CHIBNALL A. C., 1939).

Les quantités de glutamine sont obtenues, d'après sa formule, en multipliant les teneurs en N des amides instables par 5,21.

Les quantités d'asparagine sont obtenues, d'après sa formule, en multipliant les teneurs en N des amides stables par 4,71.

Les quantités d'amino-acides sont obtenues en multipliant les teneurs en N des amino-acides par le coefficient 8, calculé d'après la composition moyenne élémentaire des amino-acides des protéines des feuilles, d'après CHIBNALL A. C., (1939).

Calcul des Bilans de Carbone, d'après les variations des teneurs en Protides, en Glucides et en Ion oxalique.

Ces calculs sont faits sur les bases suivantes (cf. VICKERY H. B. et PUCHER G. W., 1939) :

C protéique et polypeptidique	= 50 % en pds des protéines et polypeptides ;
C de la glutamine	= 41 % en pds de la glutamine ;
C de l'asparagine	= 36 % en pds de l'asparagine ;
C des amino-acides	= 40 % en pds des aminoacides ;
C glucidique	= 40 % en pds des glucides exprimés en glucose ;
C de l'acide oxalique	= 27 % en pds de l'acide oxalique.



CHAPITRE II

Le métabolisme des feuilles détachées, en inanition glucidique, à l'obscurité

1. Les principaux travaux sur le métabolisme des feuilles détachées mises à l'obscurité

Précisant les travaux de BLACKMAN F. F. (1908), sur la diminution de l'Intensité respiratoire au cours du temps, présentée par des feuilles adultes de Laurier-cerise placées à l'obscurité, GODWIN H. (1926), GODWIN H. et BISHOP L. R. (1927), AUDUS L. J. (1947) ont distingué :

1° Une première période pendant laquelle l'émission de CO_2 décroît après quelques irrégularités : « floating respiration ».

2° Une période pendant laquelle le dégagement de CO_2 est constant : « protoplasmic respiration ».

Pendant ces deux phases, les métabolites glucidiques, abondants au début, ont fortement décru (surtout pendant la première) mais sont toujours présents en quantité appréciable.

3° Une période d'oxydations plus intenses, le dégagement de CO_2 croissant jusqu'à atteindre parfois sa valeur initiale, tandis que les feuilles jaunissent, que les holosides et les radicaux osidiques des glucosides disparaissent, avec libération de l'acide cyanhydrique.

La désorganisation du protoplasme s'accomplit pendant ce temps, c'est la « senescent phase », suivie rapidement par la quatrième.

4° Une période correspondant à l'attaque fongique : « phase of fungus attack », dans les conditions non aseptiques des expériences.

Les feuilles jeunes (moins de 3 mois) restent plus longtemps vertes que les feuilles adultes, et ne montrent pas d'élévation d'Intensité respiratoire contemporaine du jaunissement.

Les courbes exprimant les trois phénomènes : vitesse de l'extension du jaunissement, Intensité respiratoire et libération d'acide cyanhydrique, par rapport au temps, ont une partie superposable, correspondant à la phase de sénescence et caractéristique de l'âge (« metabolic age ») des feuilles.

De nombreuses études systématiques sur la nature des substances consommées au cours des oxydations liées au dégagement gazeux respiratoire ont été entreprises.

Les plus anciennes sont dues à DELEANO N. T. (1912), qui analysa successivement les échanges gazeux, les teneurs en différentes fractions glucidiques, acides et azotées, des feuilles de Vigne à l'obscurité. Il constata la disparition rapide des glucides solubles et de l'amidon, desquels provient la totalité du CO_2 formé pendant les premières heures, puis, en carence glucidique, la lyse protéique et l'oxydation des chaînons carbonés azotés des protides.

Il opposa les *glucides*, considérés comme seuls *métabolites respiratoires* pouvant normalement être dégradés dans les conditions physiologiques, aux *protéines*, constituants *stables* des organes, participant peut-être aux oxydations cellulaires, mais sans être eux-mêmes oxydés au cours de celles-ci.

YEMM E. W. a repris cette étude avec des feuilles d'Orge, plus rapidement sensibles à l'inanition que les feuilles de Vigne ou de Laurier-cerise.

Dans une première série de recherches (1935 *a* et *b*), il s'est attaché à l'étude des relations entre la production de CO_2 et la teneur en glucides. Ses mesures d'Intensité respiratoire (I. R.), en atmosphère constamment entretenue (méthode de PETTENKOFER), mettent en évidence un léger accroissement d'I. R. au début, suivi d'une décroissance continue d'abord très rapide, rompue par un 1^{er} plateau pendant le jaunissement et par un 2^e plateau lors du brunissement final, signe de la désorganisation complète du protoplasme (1).

Les analyses des glucides montrent une rapide chute du taux de saccharose, le principal glucide présent, une disparition précoce

(1) POPOV K. J. (1944-1945) étudiant les variations de l'I. R. de feuilles appartenant à 28 espèces différentes, placées à l'obscurité dans l'air et dans l'eau, a constaté que l'I. R. initiale est d'autant plus élevée que les feuilles sont plus riches en glucides.

du fructose par rapport au glucose et une lyse des glucides insolubles.

YEMM, calculant le volume de CO_2 correspondant aux pertes glucidiques, trouve qu'après 24 heures celles-ci sont insuffisantes pour exprimer le dégagement de CO_2 . Après 48 heures, les glucides ne peuvent y participer que pour moitié, après 90 heures, que pour $1/5$. Ce n'est que lorsque les glucides sont abondants qu'ils sont seuls, apparemment, à fournir le Carbone du CO_2 respiratoire. L'étude des Quotients respiratoires (Q. R.) faite par YEMM (technique de HALDANE) lui confirme la précocité de la participation d'autres substances aux oxydations respiratoires. Le Q. R., très voisin de l'unité au début de l'expérience, diminue dès les premières heures jusqu'à la valeur de 0,8, d'où l'hypothèse d'une participation rapide des protéines au cycle des oxydations.

Dans un 2^e travail (1937), YEMM retrouve les mêmes variations des échanges gazeux, et constate dès le début du séjour à l'obscurité une protéolyse intense. La teneur en N protéique diminue, tandis que celles de l'N aminé d'abord, puis de l'N amidé (asparagine, glutamine) ensuite, s'élèvent, pendant les 100 premières heures. Ces formes solubles tendent elles-mêmes à disparaître plus tard, tandis que l' NH_3 est libérée. Les Quotients respiratoires s'accordent à peu près avec le rythme des oxydations de substances protidiques à faible Quotient de combustion (amino-acides).

YEMM, se ralliant aux vues de CHIBNALL A. C. (1922 *a*), en conclut que l'hydrolyse des protéines, constatée dans le cas présent, est jusqu'à un certain degré un phénomène continu, point de départ normal de la solubilisation de ces substances, précédant leur migration nocturne des feuilles vers les tiges. Mais la prolongation du séjour à l'obscurité entraîne une protéolyse beaucoup plus poussée. Aucune protéogenèse ne la compense. Les protéines sont dégradées tandis que s'accumulent les amino-acides et les amides. Ultérieurement et parallèlement à l'oxydation des chaînons carbonés des amino-acides, l'asparagine et la glutamine formées *de novo* recueillent l'N ammoniacal provenant de la désamination (cf. BUTKEWITSCH W., 1909) et le « neutralisent » (PRIANISCHNIKOV D., 1924 *b*). Leur genèse est liée à une « respiration des protides » (MOTHES K., 1925) et leur accumulation peut apparaître ici comme la conséquence de l'interruption des migrations, ces substances étant par excellence les formes migratrices des protides (CHIBNALL A. C., 1923, 1924 *a* et *b*).

YEMM reprend ensuite l'étude de la genèse des amides lors de la lyse et de l'oxydation des protides.

De plus, avec SOMERS, il a étudié les variations des teneurs en acides organiques : citrique et malique « qui occupent la position centrale et par conséquent la position clé, dans le métabolisme glucidique, protéique et lipidique des cellules végétales », d'après CHIBNALL A. C. (1939).

Ces acides, dont la teneur est faible et subit peu de variations, ne peuvent jouer, dans le cas présent, un rôle appréciable dans les échanges gazeux respiratoires. Mais il n'en est pas toujours ainsi. On connaît par les travaux anciens de AUBERT E. (1892), ASTRUC A. (1903), NICOLAS G. (1909), MAQUENNE L. et DEMOUSSY E. (1913), le lien qui existe entre la formation d'acides organiques, comme l'acide malique, pendant la nuit dans les feuilles de plantes grasses et les faibles Quotients respiratoires, tandis que, pendant le jour, la diminution de la quantité d'acide malique s'accompagne d'une élévation des Quotients. Ces variations de la teneur en acides organiques (malique, citrique, isocitrique, à la lumière et à l'obscurité) ont été confirmées récemment, dans les feuilles de *Bryophyllum calycinum*, par PUCHER G. W., LEAVENWORTH C. S., GINTER W. D. et VICKERY H. B. (1947 *a* et *b*) (1).

BENNET-CLARK T. A. (1932) a précisé l'intervention de l'acide malique dans les échanges gazeux respiratoires des feuilles détachées de *Sedum praealtum* laissées à l'obscurité. Il se forme abondamment au début du séjour, tandis que le Quotient respiratoire est très bas (0,2-0,5), puis après 24 h. environ, son taux diminue et le Quotient est très élevé (1,39 à 2,05), trop élevé même pour pouvoir être expliqué par l'oxydation du seul acide malique dont le Quotient de combustion est égal à 1,33. BENNET-CLARK T. A. (1933) a insisté sur le rôle possible des acides organiques dans les échanges gazeux de toutes les plantes, mais les renseignements que l'on possède à ce sujet sont encore très fragmentaires.

THODAY D. et MAIRGRETTE JONES K. (1939), poursuivant une étude du même ordre avec les feuilles d'une Composée succulente, *Kleinia articulata*, puis THODAY D. et RICHARDS K. M. (1944), avec les feuilles de divers *Kleinia*, ont montré qu'en plus des varia-

(1) Et PUCHER G. W., VICKERY H. B., ABRAHAMS M. D. et LEAVENWORTH C. S. (1949)*.

tions des Quotients dues à la synthèse ou à la dégradation des acides organiques, une augmentation de l'Intensité respiratoire à l'obscurité pouvait être liée, juste avant la mort des organes, à une véritable « injection » des liquides vacuolaires acides dans le cytoplasme.

J'ai reconnu également (1946 *b*) que l'absorption d'acide oxalique, par des feuilles vivantes ou mortes d'Oseille et de Haricot d'Espagne, provoquait une accélération des oxydations. Lorsque les cellules sont vivantes, le Quotient respiratoire reste voisin de l'unité, traduisant l'oxydation intense prépondérante des métabolites respiratoires les plus courants tels que les glucides solubles.

De plus, bien que dans un ordre d'idée assez différent, SPOEHR H. A. et MAC GEE J. M. (1923), ont trouvé que les amino-acides absorbés par des feuilles de Tournesol et de Haricot d'Espagne, placées à l'obscurité sur le milieu liquide, provoquaient une accélération des oxydations respiratoires, en particulier des glucides.

VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. ont, dès 1933, montré que pour les feuilles de Tabac, même abandonnées à la fanaison, les glucides sont les métabolites respiratoires préférentiels, mais qu'en cas d'inanition glucidique la plus grande partie du Carbone du CO_2 respiratoire provient de substances différentes.

En 1937, ils ont repris, sur les feuilles de Tabac, l'étude des substances azotées, glucidiques et des acides organiques. Ces derniers (malique, citrique, oxalique, etc.) représentent 22 % du poids de substance sèche, 27 % de la matière sèche organique. Ces auteurs ont donné un des bilans les plus complets que l'on connaisse sur la composition quantitative d'un organe végétal. Leur travail confirme les résultats obtenus par YEMM quant aux variations de taux des différentes formes glucidiques et protidiques. La différence réside en l'accumulation de l'asparagine seule comme amide, dans le Tabac. Par contre, s'il n'y a pas de changement notable dans l'acidité totale des extraits cellulaires, la teneur en acide malique diminue, alors que la teneur en acide citrique s'élève au cours du séjour à l'obscurité. La teneur en acide oxalique varie peu.

Poursuivant des recherches identiques en 1939 sur les feuilles détachées de Rhubarbe, VICKERY H. B. et ses collaborateurs (1939 *a*) ont étudié séparément les variations concernant les limbes et les pétioles. Ils ont constaté que le taux de l'N total des limbes diminuait au cours du temps, alors que les pétioles s'enrichissaient

en N soluble. Il existe donc une migration intra-foliaire importante des substances azotées, dans ces conditions expérimentales. De plus, le poids de substance fraîche des feuilles diminue nettement au cours de l'expérience.

Les feuilles de Rhubarbe ne présentent que deux différences par rapport à celles de Tabac :

1° L'accumulation de glutamine et non d'asparagine. RUHLAND W. et WETZEL K. (1927), qui ont classé la Rhubarbe parmi les plantes du type « ammonium », ont reconnu sa richesse occasionnelle en amides tout en soulignant le parallélisme qui existe entre sa richesse en NH_3 et en acides organiques.

2° La teneur en acides organiques diminue légèrement, ce sont les acides citrique et malique qui subissent les diminutions les plus marquantes.

VICKERY H. B. et ses collaborateurs ont calculé les pertes de Carbone des diverses provenances et dressé un bilan carboné qu'il eût été intéressant de pouvoir comparer à des résultats d'analyses d'échanges gazeux.

CHIBNALL A. C. (1939) a comparé longuement les résultats de VICKERY et ses collaborateurs et de YEMM. Tout en admettant que l'énergie nécessaire à la stabilité du protoplasme est fournie dans les feuilles par les glucides et éventuellement par les acides organiques, il souligne le fait que durant les premières heures de séjour à l'obscurité, les seules pendant lesquelles le métabolisme des feuilles détachées est réellement comparable à celui des feuilles « *in situ* », les trois types de substances considérées comme « énergétiques » : glucides, acides organiques et protéines, subissent une dégradation simultanée. Tant que l'abondance de glucides subsiste, les protéines ne sont qu'hydrolysées, il n'y a pas d'oxydation des principes azotés solubles. Les glucides contribuent pour la plus large part à la formation de CO_2 , exerçant une véritable « action d'épargne » vis-à-vis des protides.

Cette période initiale, CHIBNALL l'a appelée la « phase glucidique » des dégradations. On la trouve aussi bien chez les feuilles d'Orge que de Tabac et de Rhubarbe.

Au cours d'une deuxième période, le rôle des glucides dans les oxydations devient secondaire, l'énergie, et on peut le supposer, le dégagement de CO_2 , sont obtenus par l'oxydation des acides orga-

niques, pense-t-il, en particulier de l'acide malique. La dégradation protidique par oxydation est en cours, mais n'aboutit pas à son dernier terme azoté : l' NH_3 . Celle-ci, après sa libération lors de la désamination qui accompagne l'oxydation des chaînons carbonés des amino-acides, est reprise dans une combinaison organique amidée.

C'est la « *phase des acides organiques* » dans le cours des dégradations. On la retrouve avec les feuilles de Rhubarbe, moins nettement avec celles de Tabac et pas du tout avec celles d'Orge, en raison de la pauvreté en acides de ces dernières.

Dans une période finale, la quantité d'acides organiques diminuant, l'énergie et le CO_2 dégagés trouvent leur origine dans l'oxydation des protides solubles. C'est alors que les feuilles jaunissent, que les chloroplastes se désintègrent et finalement que survient une dégradation irréversible du protoplasme. L'ammoniaque s'accumule, aucun chaînon carboné ne se trouvant disponible pour former des amides, et elle précipite la désorganisation.

C'est la « *phase protéique ou protidique* » des dégradations. Ces trois phases, qui se recouvrent d'ailleurs largement les unes les autres, pourraient, d'après CHIBNALL, être caractérisées par un Quotient respiratoire propre : $= 1$ pour la première,
 > 1 pour la seconde,
 < 1 pour la troisième,

lorsqu'il est possible de les individualiser.

Plus récemment, les phytophysiologistes d'Adélaïde, Wood J. G. et ses collaborateurs, ont entrepris l'étude des relations entre les échanges gazeux et le métabolisme azoté des feuilles détachées mises à l'obscurité en aérobiose et en anaérobiose, avec une préoccupation différente : les processus de dégradation et les processus de synthèse des protides ont-ils ou non une communauté dans leur mécanisme, en présence ou en absence d'air ?

WOOD J. G., CRUICKSHANK D. H. et KUCHEL R. H. (1943 a) ont suivi parallèlement les échanges gazeux et les modifications des protides, des glucides et des acides organiques des feuilles de l'Herbe du Soudan (*Andropogon sudanensis* L. et B.) et de Kikuyu (*Pennisetum clandestinum* Hockst.), dans l'air et dans une atmosphère d'Azote.

Leurs analyses des échanges gazeux, qui ne comportent que celles

du CO_2 émis, sont faites par la mesure des variations de la conductivité électrique des gaz ou par absorption alcalimétrique. Ils constatent que la dégradation des glucides est plus rapide dans l'air que dans l'Azote, la protéolyse également. La production d'asparagine n'a pas lieu en anaérobiose. Certaines oxydo-réductions cellulaires, notamment celles qui sont liées, lorsque le taux des glucides oxydables est bas, à une oxydation intense des amino-acides dérivés des protéines et à la conversion de l' NH_3 en amides, ne se produisent qu'en présence d'Oxygène. Elles caractérisent ce que les auteurs appellent la « climateric respiration » dont l'intensité est plus élevée que l'initiale. De plus, dans l'atmosphère d'Azote, les feuilles ne jaunissent pas, mais brunissent plus ou moins rapidement.

WOOD J. C., CRUICKSHANK D. H. et KUCHEL R. H. (1943 *b*) ont de plus suivi la dégradation des chloroplastes qu'ils ont isolés par centrifugation des feuilles broyées. Elle débute par une contraction de la substance chloroplastique, contemporaine de la chute du taux des protéines, de la chlorophylle et de l'acide ascorbique, puis les chloroplastes se morcellent et leur disparition est complète quand les feuilles sont jaunes.

D'après ces auteurs, la chute du taux des protéines et la dégradation des chloroplastes sont liées si étroitement que la première se ralentit après le jaunissement, de telle sorte que la protéolyse peut être rapportée presque exclusivement à l'hydrolyse de la substance chloroplastique (pour l'Herbe du Soudan au moins, car pour le Kikuyu la lyse protéique est beaucoup plus importante).

Enfin (1943 *c*), ils constatent qu'en anaérobiose les taux d'acides citrique et malique ne s'élèvent pas au cours du temps comme en aérobiose.

WOOD J. G., MERCER F. V. et PEDLOW C. repriront l'année suivante (1944), avec les feuilles de Kikuyu, l'étude du métabolisme en aérobiose et anaérobiose, à l'obscurité, en faisant alterner le séjour des feuilles dans l'air et dans l'Azote.

Après un séjour en atmosphère d'Azote, les feuilles aérées présentent un accroissement brutal des oxydations, le taux des amides s'élève, ainsi que celui de l'acide citrique. Le transfert inverse, de l'air dans l'Azote, entrave la genèse des amides.

Le calcul du Carbone disparu au cours du temps confirme qu'au début les glucides sont à peu près seuls oxydés. Ensuite, les protides sont à l'origine du CO_2 émis.

WOOD J. G. et CRUICKSHANK D. H. (1944) ont suivi les teneurs en différents amino-acides des feuilles de *Avena sterilis* Lam. et de Kikuyu à l'obscurité, au cours du temps.

Ces amino-acides diminuent de taux, les uns par rapport aux autres. Ils sont oxydés plus rapidement dans l'ordre suivant : cystine, acide glutamique, arginine, tyrosine, tryptophane.

CRUICKSHANK D. H. et WOOD J. G. (1945), étudiant à nouveau les variations des substances azotées et des acides organiques des feuilles d'*Avena sterilis* Lam., en inanition à l'obscurité, suggèrent qu'en aérobiose une partie des acides malique et citrique, dont le taux s'accroît, proviennent de chaînons carbonés protidiques, probablement amidés.

Il m'a paru intéressant, à titre d'introduction, d'étudier les relations entre le métabolisme azoté et la respiration des feuilles détachées de Blé, de Haricot d'Espagne, de Sarrasin et d'Oseille, abandonnées à l'obscurité en inanition glucidique, en essayant de préciser principalement :

1° Les liens entre les différentes phases définies dans le cours des échanges gazeux par GODWIN H., CHIBNALL A. C., WOOD J. G. et ses collaborateurs.

2° Les liens entre les échanges gazeux, la formation et la disparition des amides.

3° Le bilan carboné des métabolites, comparé aux échanges gazeux.

4° Les liens entre les échanges gazeux et le métabolisme azoté des feuilles riches en acide oxalique ou en oxalates.

2. Partie expérimentale

GÉNÉRALITÉS.

1° Un essai préliminaire ayant montré que le jaunissement des feuilles était retardé de deux jours en moyenne lorsque leur base était immergée non dans l'eau, mais dans une solution Knop, j'ai utilisé ce milieu.

2° Les feuilles ont été maintenues à des températures inférieures à 20°, les températures plus élevées, généralement utilisées dans

les expériences de ce type, provoquant une accélération des oxydations écourtant la durée des différentes phases.

3° Les analyses de gaz ont porté sur le CO_2 émis et l' O_2 absorbé pendant toute la période intercalée entre deux séries de dosages d'Azote, de glucides et d'ion oxalique, ce qui permet d'éviter dans les calculs les erreurs dues au fait que les échanges gazeux analysés pendant de courtes périodes ne restent pas constants, et ne peuvent par suite être extrapolés sans risque d'erreur aux périodes nécessairement longues séparant les prises d'essai destinées aux autres analyses.

4° Les échanges gazeux et les variations dans les teneurs en Azote, glucides et ion oxalique de feuilles restées sur pied, à la lumière, ont été également étudiés pendant la durée des expériences, ce qui permet de situer le cours du métabolisme des feuilles inanitiées par rapport à celui de feuilles se trouvant dans les conditions normales.

5° Les expériences proprement dites, sur les feuilles détachées, ne commencent toujours que plusieurs heures après la récolte des échantillons, ceux-ci étant laissés au repos dans les bacs, sur milieu liquide, à la lumière diffuse. Ainsi la plupart des irrégularités initiales dues aux traumatismes de section ne sont pas totalisées dans les bilans.

6° Pendant la période de jaunissement, le contrôle de l'état vivant est effectué au Rouge neutre. Les parties visiblement mortes sont toujours éliminées.

Expérience I : *Limbes de Blé.*

Les limbes de Blé *Fylgia* utilisés proviennent de pieds issus de graines semées le 12 avril 1946. L'expérience débute le 17 juin au matin. Les plantes, âgées de 65 jours, ont 6 feuilles développées, dont 5 au limbe entièrement déroulé, le limbe de la 6^e étant encore roulé sur lui-même à sa base.

Les limbes des 2 feuilles n° 5 et n° 6 sont prélevés séparément. Les séries d'analyses complètes ne portent que sur les limbes des feuilles n° 5. La section est faite dans la gaine environ 1 cm. au-dessous de la ligule. La longueur des limbes n° 5 est de 34 ± 2 cm. (surface 22-25 cm²), celle des limbes n° 6 de 20 ± 2 cm. (surface 17-19 cm²). Après lavage et 8 heures environ de repos, le fragment

de gaine étant plongé dans le liquide de Knop, les limbes sont transportés dans une chambre obscure à température constante : $T = 17^{\circ} \text{C}$, et d'état hygrométrique constant : $83^{\circ} \pm 2^{\circ}$.

Les lots destinés à l'analyse des échanges gazeux sont disposés dans les enceintes respiratoires, les lots destinés aux premières analyses d'Azote, de glucides et d'ion oxalique sont fixés, après que les limbes aient été débarrassés du fragment de gaine qui les accompagne.

Toutes les 48 heures, les mêmes opérations se répètent sur de nouveaux lots et le liquide est renouvelé. Dans les derniers lots, les limbes sont débarrassés de leur extrémité qui brunit et se dessèche.

La durée de séjour dans les enceintes respiratoires des lots destinés à l'analyse des échanges gazeux est de 46 ± 2 heures. Les manipulations de pesées, mise en enceinte, fixations, qui demandent 1 heure environ sont toujours faites au même moment de la journée.

Un lot de limbes témoins baignant par leur base dans 50 cm^3 de solution Knop, permet de suivre les variations du poids de substance fraîche. Le liquide est renouvelé toutes les 48 h., l'N nitrique et l'N ammoniacal dosés, les quantités respectives apparues ou disparues de ces deux formes azotées sont ainsi connues.

Deux séries d'analyses sur des lots de limbes restés sur les pieds, en pleine terre à la lumière, permettent d'établir la comparaison avec le métabolisme normal de limbes identiques.

RÉSULTATS.

1° *Variations de poids. Teneur en eau. Echanges d'N avec le milieu (Tableau IA).*

Le poids de substance fraîche augmente pendant les premières 48 h., puis diminue régulièrement jusqu'à la fin de l'expérience. Par contre, le poids de substance sèche diminue constamment, plus rapidement d'ailleurs au début et à la fin de l'expérience qu'entre les 48^e et 240^e heures.

La teneur en eau (exprimée pour 100 parties de matière sèche) s'élève au début pour diminuer ensuite progressivement, jusqu'à atteindre des valeurs très basses pour des limbes adultes.

L'absorption de l'ion NO_3 est insignifiante, tandis que l'émission de NH_3 , à partir de la 144^e heure, devient importante et croît jusqu'à la mort, entre les 240^e et 288^e heures. Il se produit en fin de séjour une véritable évacuation de liquide. Par contre, les poids et teneurs en eau des témoins A et B restent à peu près constants.

2° Jaunissement (Tableau I A).

Après 96 h., le jaunissement des limbes débute à la partie supérieure. Il est total après 240 h., les tissus privés de chlorophylle restent cependant vivants.

Les limbes plus jeunes, n° 6, présentent les mêmes caractéristiques, mais le jaunissement est plus tardif. Ils sont encore vivants à la 288^e heure.

3° Echanges gazeux respiratoires (Tableau I B).

L'Intensité respiratoire (I. R.), exprimée en cm^3 de CO_2 dégagé par heure, aussi bien pour 20 limbes que par rapport au g. de substance sèche, augmente pendant les premiers jours, puis diminue jusqu'à l'approche de la mort, et s'élève à nouveau jusqu'à dépasser la valeur initiale constatée. Les limbes n° 6 présentent des variations identiques d'I. R. et le relèvement final *précède nettement la mort*. Ces variations sont comparables à celles qu'indiquent YEMM E. W. (1935 b) et JAMES W. O. (1943) pour les feuilles d'Orge maintenues à l'obscurité.

L'I. R. des témoins présente une légère diminution, si on la rapporte au poids de substance sèche et, par contre, une légère augmentation, si on l'exprime par rapport au même nombre d'individus.

Les Quotients respiratoires (Q. R.), toujours inférieurs à l'unité pour les limbes n° 5, diminuent jusqu'à la 144^e heure, s'élèvent ensuite, atteignent le maximum avant la mort, puis diminuent à nouveau. Pour les limbes n° 6, la chute initiale est également suivie d'une augmentation, et le Q. R. se maintient élevé jusqu'à la fin de l'expérience.

Pendant le même temps, les témoins présentent une légère élévation du Q. R.

4^o *Variations des différentes formes d'Azote et des Protides*
(Tableaux I C et I E).

1. *N protéique*. L'N protéique (3,15 % du poids de substance sèche, initialement) diminue rapidement d'abord, plus lentement à partir de 96 h. et se stabilise après 192 h. à environ 25 % de sa valeur initiale.

2. *N organique soluble*. (0,56 % P. S.). L'N organique soluble augmente dans les premières 48 heures proportionnellement à la diminution d'N protéique. Il s'élève encore, mais plus légèrement, jusqu'à la 96^e heure, puis diminue régulièrement tout en gardant un taux supérieur à son taux initial.

3. *N organique total*, qui traduit les variations globales des deux formes précédentes, montre, après une courte période de stabilité (48 h.), une diminution qui s'accroît après 96 h., puis se ralentit après 192 h. (perte : 44 % après 240 h.).

4. *N des amides instables*. Cet N (= N amidé instable $\times$ 2), qui peut être considéré comme appartenant pour la plus grande part à la glutamine, augmente jusqu'à la 192^e h., puis diminue brusquement. Son origine pourrait théoriquement être triple (Tableau I D).

a) directe, provenant de l'hydrolyse des protéines foliaires qui renferment environ 5 % d'N amidé (analyses de LUGG J. W. H. (1939) des protéines de *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Festuca ovina*, de LUGG J. W. H. et WELLER R. A. (1944), des protéines de *Phalaris tuberosa*, *Hordeum murinum*), en admettant que les hydrolyses « *in vivo* » et « *in vitro* » aboutissent aux mêmes résultats.

b) indirecte, par transformation de l'acide aminé correspondant, l'acide glutamique, provenant de l'hydrolyse protéique. D'après MILLER E. J. (1936) et CHIBNALL A. C. (1939), il peut comprendre 8 % de l'N protéique dans *Dactylis glomerata*.

c) indirecte, par néoformation à partir de l'N libéré par l'oxydation des amino-acides et de chaînons carbonés dont l'origine hypothétique peut être recherchée parmi les acides organiques proprement dits (elle est peu probable : VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S., 1939 a), parmi les amino-acides autres que l'acide glutamique, parmi les glucides.

L'examen du tableau I D, dont les nombres sont calculés sur les bases précédentes, montre que cette dernière genèse indirecte n'est certainement pas réalisée, l'accroissement d'N des amides instables ne dépassant pas la quantité d'N glutaminique pouvant provenir des deux premières sources possibles, à moins d'admettre *a priori* que la vitesse de dégradation de la glutamine l'emporte toujours sur la vitesse de sa néoformation.

Le limbe de Blé se rapproche à ce sujet de celui d'autres Graminées telles que le Kikuyu, l'Herbe du Soudan (WOOD J. G. et ses collaborateurs, 1943, 1944) et l'Orge (YEMM E. W., 1937).

5. *N des amides stables* (Tableau I D). Cet N (= N amidé stable $\times 2$), qui est en majeure partie celui de l'asparagine, augmente rapidement pendant les 96 premières heures, puis diminue très fortement surtout entre 192 et 240 h. Son augmentation première est corrélative de la protéolyse. On peut lui trouver également la même triple origine. L'origine directe, par libération des amides préexistant dans les protéines (5 %) et l'origine indirecte par conversion de l'acide aspartique (5 % de l'N protéique, d'après MILLER E. J. (1936) et CHIBNALL A. C. (1939)), sont insuffisantes pour expliquer cette augmentation. Il est donc fort probable qu'une « neutralisation » de l' NH_2 provenant de la désamination des acides aminés a lieu par combinaison avec de nouveaux chaînons carbonés. Après 96 h., l'accroissement possible d'asparagine par l'une quelconque des voies précédentes est totalement masqué par sa dégradation.

6. *N des amino-acides*. Sa teneur augmente beaucoup de 0 à 48 h., plus faiblement jusqu'à 96 h., puis diminue rapidement d'abord, plus lentement dans les dernière heures. Son origine est liée à la protéolyse. L'oxydation et la désamination des amino-acides est très tôt plus rapide que leur libération.

7. *N « polypeptidique »*. La quantité d'N polypeptidique (incluant ici l'N des bases hexoniques et l'N purique) augmente au début du séjour, pendant la durée de la forte protéolyse, puis diminue régulièrement. Les polypeptides représenteraient donc bien, comme l'a indiqué LINDERSTRÖM-LANG K. (1939), les premiers termes de la protéolyse par voie biologique. Très rapidement, leur genèse est masquée par une rapide dégradation.

8. *N ammoniacal*. L'N ammoniacal est peu abondant au début de l'expérience. Sa teneur augmente brusquement après 96 h., puis se maintient élevée. Il faut tenir compte également de l'enrichissement en NH_3 du milieu liquide, très sensible après 144 h., et probablement des parties mortes basales des limbes qui ont pu recevoir de l' NH_3 venant des parties restées vivantes.

9. *N nitrique*. L'N nitrique, en très faible quantité au début, s'accroît dès la 96^e h. et se maintient à un taux plus élevé. Son augmentation est du même ordre de grandeur que la disparition de l'ion NO_3^- du milieu liquide. Il n'y a donc pas lieu d'envisager pour lui une autre origine et on peut négliger ses variations dans l'étude présente du métabolisme azoté.

10. *N total*. L'N total, stable pendant les 48 premières heures, diminue constamment et régulièrement ensuite. Cette perte d'N (35 % après 240 h.) provient de l' NH_3 qui diffuse dans le milieu de culture ou bien s'accumule dans la partie basale des limbes qui est détachée avant les analyses, comme il émigre des limbes de Rhubarbe dans les pétioles (VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S., 1939 a), à l'obscurité. Un autre processus possible de perte d'N a été signalé par PEARSALL W. H. et BILIMORIA M. C., (1936), à propos de cultures de *Chlorella vulgaris* et par MOTHES K. (1938) à propos de cultures de feuilles. Cette perte serait due à la production directe d'N gazeux à la suite d'une réaction des nitrites, provenant de la réduction des nitrates par le protoplasme, sur les acides aminés. IRVING A. et HANKINSON R. (1908), ont signalé il y a longtemps que l'Elodée émet de l'N gazeux lorsqu'elle est immergée dans une solution renfermant des nitrates et de l'asparagine comme aliments azotés.

Cette réaction rencontrée chez des plantes aquatiques, identique en somme à celle qui est utilisée dans la méthode de dosage de VAN SLYKE, a peu de chance de se produire. Il n'y a pratiquement pas d'N nitreux dans les feuilles, d'autre part la réaction de VAN SLYKE ne s'effectue que dans un milieu d'acidités actuelle et potentielle fortes et rien ne permet d'envisager sa réalisation « *in vivo* » jusqu'à présent (1).

(1) ALLISON F. E. et ses collaborateurs (1948) ont repris l'étude des pertes en Azote dans les cultures, par départ d'N gazeux. Leurs conclusions sont positives à propos de cultures de *Chlorella* et de *Lemna*, négatives à propos de cultures de feuilles d'Iris, de Narcisse et de *Belamcanda*.

Le tableau I E représente les variations correspondantes des teneurs en protides calculées d'après les formes d'N.

Les limbes témoins prélevés au milieu et à la fin de l'expérience ne montrent que peu de variations des différentes formes azotées et aucune du même type que celles qui viennent d'être décrites. Les variations d'ailleurs y sont de l'ordre des fluctuations individuelles et, en particulier, les quantités de NH_3 et de nitrates restent très faibles.

5°. Variations des différentes formes glucidiques (Tableau I C).

Le Blé appartient aux Graminées lévulifères (BELVAL H., 1924, ARCHBOLD H. K., 1940). Les glucides solubles, les seuls dont la dégradation soit aisée, représentent plus des 4/5 des glucides totaux trouvés dans les limbes. Il s'agit presque uniquement du saccharose et de ses produits d'hydrolyse.

1. *Glucides solubles*. La teneur en glucides solubles réducteurs (glucose et fructose) diminue peu au cours du temps alors que le taux de saccharose tombe des 7/8 en 48 h. De tous les métabolites analysés, il est, à l'origine, celui qui subit les pertes les plus marquées.

2. *Glucides insolubles*. Ils ne comprennent ni amidon, ni dextrines et ne donnent aucune coloration avec l'iode. La réaction de SELIWANOFF est également négative. Ils ne comprennent donc pas de lévulosides.

Ces glucides, qui, par contre, donnent en présence d'orcine en solution chlorhydrique la coloration bleue des pentoses, appartiennent vraisemblablement au groupe des polyuronates solubles dans l'eau froide ou chaude (les deux extraits sont réunis), c'est-à-dire aux matières pectiques et hémicelluloses des anciens auteurs.

WEIHE H. D. et PHILLIPS M. (1942) ont trouvé dans les hydrolysats d'hémicelluloses du Maïs, du d.xylose, du l.arabinose, de l'acide d.glycuronique.

Ces glucides sont également en partie oxydés pendant les premières 48 h., mais ensuite leur taux se maintient constant jusqu'à la mort des tissus.

Les variations des glucides totaux (5,45 % P. S., initialement) ne traduisent donc globalement que celles du saccharose, ainsi que l'a établi déjà KROTKOV G. (1939).

Les limbes témoins gardent par contre une teneur élevée en saccharose pendant le même période.

6° Variations de l'ion oxalique (Tableau I C).

L'ion oxalique, exprimé en acide, est présent dans les limbes surtout sous forme insoluble (il n'y a que des traces d'oxalates solubles et je ne les ai pas analysées séparément).

La teneur des tissus en acide oxalique total s'échelonne entre 0,04 % et 0,18 % du poids de la matière sèche, indiquant une faible production pendant la durée de l'expérience, alors que les limbes restés sur pied, à la lumière, ne présentent pas de variations à ce sujet.

Voici les résultats obtenus par les auteurs qui ont suivi les variations d'acidité de limbes de Graminées, au cours de l'inanition.

1° Variations des acides malique et citrique dans les limbes d'Orge mis à l'obscurité (YEMM et SOMERS, d'après CHIBNALL A. C., 1939).

Acide malique : diminution de 120 à 80 milli-équivalents $\times 10^{-3}$, soit de 8 mg. à 5,4 mg. par g. de substance fraîche, en 192 h.

Acide citrique : augmentation de 10 à 50 milli-équivalents $\times 10^{-3}$, soit de 0,64 à 3,20 mg. en 192 h.

Il y a compensation à peu près parfaite et les Quotients de combustion de ces deux acides étant tous deux égaux à 1,33, on peut admettre que leurs variations ne retentissent pas sur le Q. R. des limbes.

L'acidité totale, qui oscille irrégulièrement entre 200 et 350 milli-équivalents $\times 10^{-3}$ par g. de substance fraîche, ne peut pas non plus provoquer de variations significatives de Q. R.

2° Variations des acides malique et citrique dans les limbes de Kikuyu et d'Herbe du Soudan à l'obscurité (WOOD J. G., CRUICKSHANK D. H. et KUCHEL R. H., 1943).

Kikuyu : la teneur en acide malique s'élève de 1 à 5 mg. par g. de substance fraîche en 3 jours.

La teneur en acide citrique s'élève de 0,5 à 1,2 mg. par g. de substance fraîche en 3 jours, puis diminue et s'annule après 7 jours.

Herbe du Soudan : la teneur en acide malique est constante (2 mg. par g. de substance fraîche).

La teneur en acide citrique s'élève de 0,3 mg. à 0,7 mg. par g. de substance fraîche.

Les variations sont également faibles dans les limbes de ces deux Graminées.

Les teneurs en acides organiques des organes aériens du Blé sont encore plus faibles :

		Quotients de combustion	
	du Poids de substance fraîche		
acide malonique..	0,05 o/oo	Q. C. =	1,5
— aconitique..	0,40 o/oo	Q.C. =	1,33
— malique....	0,56 à 0,64 o/oo	Q.C. =	1,33
— citrique....	0,16 à 0,19 o/oo	Q.C. =	1,33
— oxalique (insoluble)..	0,2 o/oo	Q.C. =	4
— (soluble)	traces.		

d'après NELSON E. K. et HASSELBRING H. (1931).

Leurs variations peuvent donc être négligées, sauf peut-être celles de l'acide oxalique dont le Quotient de combustion est très élevé.

TABEAU I A

Limbes de Blé.

Variations de Poids de 20 Limbes n° 5,

N nitrique disparu, N ammoniacal apparu (en mg.).

1-2-3-4-5-6-7 : Limbes à l'obscurité, T = 17° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1 17 juin 0 h.	2 19 juin 48 h.	3 21 juin 96 h.	4 23 juin 144 h.	5 25 juin 192 h.	6 27 juin 240 h.	7 29 juin 288 h.	A 24 juin	B 29 juin
Substance fraîche	9.181	9.750	8.953	8.201	7.374	6.264	5.743	9.168	9.201
Substance sèche	1.505	1.430	1.386	1.328	1.277	1.235	1.157	1.554	1.640
N. NO ₃ , disparu.		0,7	0,8	0,8	0,6	0,2	0,2		
N. NH ₃ , apparu		—	—	1,2	1,7	2,9	4,0		
Teneur en eau pour 100 de substance sèche.									
	510	581	545	518	477	407	396	490	461
Surface jaunie/surface totale.									
			1/10	1/4	1/2	1	Début de bru- nisse- ment et mort		

TABLEAU I C

Limbes de Blé.

**Variations des principales formes d'Azote, des Glucides
et de l'Ion oxalique (en mg. pour 20 Limbes n° 5).**

1-2-3-4-5-6-7 : Limbes à l'obscurité, T = 17° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1	2	3	4	5	6	7	A	B
	0 h.	48 h.	96 h.	144 h.	192 h.	240 h.	288 h.		
N protéique	47,36	32,91	22,31	17,00	12,13	13,95	13,19	51,13	54,45
N organ. sol.	8,41	23,42	28,83	25,50	22,09	17,04	12,73	8,39	8,03
N des Amides instables	0,12	0,86	0,42	1,46	1,79	1,48	0,81	0,15	—
N des Amides stables	1,32	5,10	10,67	9,43	7,66	2,96	2,20	0,77	0,98
N des Amino-acides	5,48	13,39	14,28	10,09	10,60	8,89	8,10	5,13	4,76
N polypeptid.	1,20	2,57	2,63	1,86	1,53	1,11	1,50	2,02	1,64
N organ. total	55,77	56,33	51,14	42,50	34,22	30,99	25,92	59,52	62,48
N (NH ₃)	0,32	0,66	0,83	4,12	6,13	3,95	4,63	0,15	0,16
N (NO ₃)	0,48	0,31	1,11	1,59	1,79	1,73	1,50	0,31	0,33
N total	56,57	57,30	53,08	48,21	42,14	36,67	32,05	59,98	62,97
Gl. insol.	17,01	7,86	8,87	9,30	7,41	7,52	2,51	8,70	21,32
Gl. sol. non réd.	58,54	11,87	5,13	3,85	1,28	1,61	—	40,87	68,88
Gl. sol. réd.	6,47	5,43	6,38	6,24	9,32	6,42	0,68	12,74	17,88
Gl. totaux	82,02	25,16	20,38	19,39	18,01	15,55	3,19	62,31	108,08
Ion oxal. (en acide)	0,60	0,86	1,25	1,46	1,53	2,22	1,97	0,31	—

TABLEAU I D

Limbes de Blé.

Gains ou pertes de l'Azote des Amides

(en mg. pour 20 Limbes n° 5).

	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7
	0-48 h.	48-96 h.	96-144 h.	144-192 h.	192-240 h.	240-288 h.
N des Amides instables	+ 0,74	— 0,44	+ 1,04	+ 0,33	— 0,31	— 0,67
N Glutamine dér. de l'Ac. glut. (8 % × 2).	+ 2,32	+ 1,70	+ 0,84	+ 0,78	— 0,30	+ 0,12
N des Amides stables	+ 3,78	+ 5,57	— 1,24	— 1,77	— 4,70	— 0,76
N Asparag. dér. de l'Ac. aspart. (5 % × 2)	+ 1,44	+ 1,06	+ 0,54	+ 0,48	— 0,18	+ 0,08
Différence	+ 2,34	+ 4,51	—	—	—	—
N des Amides dér. des prot. (5 % × 2)	+ 1,44	+ 1,06	+ 0,54	+ 0,48	— 0,18	+ 0,08

TABLEAU I E

*Limbes de Blé.***Variations des principaux groupes protidiques**

(en mg. pour 20 Limbes n° 5).

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 240 h.	7 288 h.
Protéines (+ polypeptides) ($N \times 6,25$)	303	222	155	118	86	94	91
Glutamine ($N \times 5,21$)	1	4	2	8	9	8	4
Asparagine ($N \times 4,71$)	6	24	50	44	36	14	10
Amino-acides ($N \times 8$)	44	107	114	81	85	71	65
Protides totaux . . .	354	357	321	251	216	187	170

TABLEAU I F

*Limbes de Blé.***Bilan de Carbone**

(en mg. pour 20 Limbes n° 5).

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.
C Protéines + Polypeptides	— 41	— 33	— 19	— 16	+ 4?	— 5
C Glutamine	+ 2	— 1	+ 2	+ 1	— 1	— 1
C Asparagine	+ 7	+ 9	— 2	— 3	— 8	— 1
C Amino-acides	+ 26	+ 2	— 14	+ 3	— 7	— 2
C d'origine protidique	— 6	— 23	— 33	— 15	— 12	— 9
C Glucides	— 23	— 2	— 1	— 1	— 1	— 5
C Ac. oxalique	traces	traces	traces	traces	traces	traces
C perdu total calculé	— 29	— 25	— 34	— 16	— 13	— 14
C perdu mesuré (respiration)	— 30	— 33	— 31	— 24	— 19	— 32

Interprétation (Fig. Ia, Ib, Ic, Tableau IF).

Les limbes de Blé adultes, en inanition glucidique à l'obscurité, sur liquide de Knop, absorbent de l'eau pendant les premières

heures tandis que leurs glucides sont consommés seuls ou presque (Voir le Tableau I F sur lequel sont représentées les variations du Carbone d'origine glucidique, protidique et oxalique, et la Fig. I b).

1° En raison du traitement préalable (repos des limbes à la lumière diffuse) et aussi de leur prélèvement matinal, leurs métabolites glucidiques peu abondants sont rapidement consommés. Pendant le même temps, les protéines subissent une lyse intense, qui se traduit par un accroissement de la teneur en polypeptides, amino-acides et amides.

Le Quotient respiratoire (Fig. I c) traduit par sa valeur voisine de 1 l'oxydation préférentielle des glucides (cf. KROTKOV G., 1939). Cette période, qui s'étend à peu près dans les 48 premières heures, correspond à la fin de la phase de « floating respiration » de GODWIN H. et à la phase glucidique de CHIBNALL A. C.

2° Dans une 2^e phase, les glucides, en beaucoup moins grande quantité, ne fournissent qu'une faible partie du Carbone émis sous forme de CO_2 . Les protides, amino-acides, glutamine, sont abondamment oxydés et l' NH_3 qui résulte de leur désamination n'est pas simplement neutralisée par les acides organiques, elle est engagée dans une combinaison amidée, sous forme d'asparagine. La différence de comportement des deux amides, asparagine et glutamine, peut tenir simplement à leur différence de stabilité. La glutamine beaucoup plus labile que l'asparagine, disparaît rapidement. L'origine du chaînon carboné des amides peut se trouver dans les chaînons des amino-acides. En raison du faible taux des glucides, il est peu probable que ces derniers puissent être la source des chaînons carbonés amidés.

On pourrait songer à la comparaison des Q.R. mesurés et des Q. R. calculés en supposant tantôt l'une, tantôt l'autre des deux origines possibles, pour départager les deux hypothèses.

Mais le calcul des quantités d' O_2 fixé par rapport au C perdu donne le même résultat, que l'on admette une origine glucidique ou une origine amino-acide (protidique).

Ex. : Blé (0 — 48 h.)

1° *Origine glucidique.*

C glucidique perdu dans la respiration	= 23 — 4 = 19	O ₂ correspondant	= 19 (Q. C. = 1)
C protidique perdu dans la respiration	= 6 + 4 = 10	—	= 12,5 (Q. C. = 0,8)
		O ₂ correspondant à l'oxydation de 4C glucidiques en 4C de l'asparagine	= 0,5
Total	<u>29</u>		<u>32</u>

2° *Origine protidique.*

C glucidique perdu dans la respiration	= 23	O ₂ correspondant	= 23 (Q. C. = 1)
C protidique perdu dans la respiration	= 6	—	= 7,5
		O ₂ correspondant à l'oxydation de 4C d'acido-amino-acides en 4C de l'asparagine	= 1,5
Total	<u>29</u>		<u>32</u>

Ces calculs sont faits, pour simplifier, à partir des éléments du tableau I F. Les nombres sont donc pour le C d'une part, pour l'Oxygène d'autre part, proportionnels au nombre des molécules ou d'atomes.

J'admets que 4 C, sur la totalité, sont engagés dans la conversion en asparagine. Les rapports $\frac{O}{C}$ étant pour les différentes substances en jeu :

glucides : $\frac{4}{4}$, acido-amino-acides (exprimés en acide butyrique de QC = 0,8) :

$\frac{2}{4}$, asparagine (exprimée en acide malique, après hydrolyse de ses

fonctions amine et amide) : $\frac{5}{4}$. On voit qu'il suffit d'une demi-

molécule d'O₂ pour oxyder 4 C glucidiques en 4 C d'asparagine,

alors qu'il en faut $\frac{3}{2}$ pour obtenir le même résultat avec 4 C

d'acido-amino-acides.

Les résultats ne peuvent être qu'identiques puisque le Q. R. n'exprime que le rapport global du CO₂ émis à l'O₂ absorbé, quelles

que soient les réactions intermédiaires dans lesquelles l'O₂ est engagé.

Le maintien de l'Intensité respiratoire élevée et même sa légère augmentation entre 48 et 96 h. correspond peut-être à l'excitation des oxydations des glucides par les amino-acides (SPOEHR H. A et Mc GEE J. M., 1923), mais elle paraît devoir être rapportée surtout à l'afflux de métabolites solubles oxydables dérivés de la lyse protéique comme de la lyse glucidique (cf. BLACKMAN F. F., 1928).

Le Quotient respiratoire traduit l'oxydation des dérivés protidiques. Cette période, qui s'étend jusqu'au delà de 96 h., correspond aux phases protoplasmique de GODWIN H., « climateric » de WOOD J. G. et au début de la phase protéique de CHIBNALL A.C.

Si la perte d'N protidique est faible, par suite de l'accumulation d'N sur les chaînons carbonés amidés, par contre la protéolyse a été très intense puisqu'environ 50 % de l'N protéique initial ont disparu, mais les feuilles sont cependant restées vertes.

3° Après 144 h. de séjour à l'obscurité, le jaunissement devient important, la désintégration du pigment chlorophyllien est donc très nettement postérieure au début de la protéolyse. Elle se manifeste au moment où NH₃ commence à être libérée. Par elle-même, la chlorophylle ne renferme qu'une faible quantité de l'N total des tissus (1 à 2 % de l'N total : KLEIN G., 1932 III). Par contre, les chloroplastes renferment certainement de 30 à 40 % de l'N protéique total des cellules.

Les chloroplastes du Tabac, de la Tomate, renferment 30 à 40 % de l'N total des limbes et les protéines chloroplastiques possèdent 80 % de l'N total des chloroplastes (SAM GRANICK, 1938). Dans les feuilles adultes d'Herbe du Soudan, 35 à 40 % des protéines totales des limbes sont localisées dans les chloroplastes (HANSON E. A., BARRIEN B. S. et WOOD J. G. (1941). Les chloroplastes de l'Avoine renferment 30 à 40 % de l'N total des feuilles (GALSTONE A. W., 1943).

Il est hors de doute qu'au moment où le jaunissement commence, les protéines des chloroplastes sont dégradées. Après 96 h., plus de 50 % de l'N protéique a disparu. La lyse des chloroplastes dans les « grana » desquels la chlorophylle, les caroténoïdes, l'acide ascorbique et les phosphatides sont liés les uns aux autres (WEIER E.,

1938), débute par une protéolyse. La perte de la couleur verte n'est jamais franche, la teinte pâlit avant de faire place à la teinte jaune due aux produits d'oxydation des caroténoïdes (cf. MÖBIUS M., 1927).

Après 240 h., le jaunissement est total et bientôt apparaît la coloration brune des tissus morts, qui deviennent translucides par la suite.

Durant la période de jaunissement, la protéolyse se poursuit plus lentement que pendant les précédentes, ce qui permet de penser, à la suite de SMIRNOW A. J. et IZWOSCHIKOW W. P. (1930), qu'une fraction des protéines est plus stable que l'autre et n'entre pas aisément dans le flux métabolique. Peut-être s'agit-il des nucléo-protéines.

De plus, l'oxydation des amino-acides est très intense, ces corps fournissent toujours la plus grande partie du Carbone excrété, mais l' NH_3 qui provient de leur dégradation n'est plus immobilisée sous forme d'amides et le taux de ces dernières, qui a atteint son maximum à la fin de la phase précédente, diminue, traduisant leur propre oxydation.

Est-ce le manque de chaînons carbonés qui est la conséquence de la non formation supplémentaire d'amides ? C'est évidemment lui, si l'on envisage la compétition établie entre l'oxydation des chaînons carbonés et les besoins éventuels pour la synthèse de l'asparagine. Autrement dit, l'oxydation est suffisamment rapide pour qu'il n'y ait plus de Carbone disponible, elle est telle que les chaînons carbonés de l'asparagine sont eux-mêmes oxydés.

L'enrichissement en NH_3 précipite la désorganisation du protoplasme, la « désintoxication » (PRIANISCHNIKOV D., 1924 b) n'étant plus effectuée, et la migration de l' NH_3 vers les parties basales et vers l'extérieur, avec la perte de liquide des feuilles, étant insuffisante pour que soit assurée sa disparition des cellules (1).

(1) La libération de NH_3 entraîne inévitablement une erreur dans les dosages du CO_2 respiratoire, une partie de celui-ci pouvant être immobilisée sous forme de sel d'Ammonium (MOLLIARD M., 1909). Mais cette erreur ne change pas le signe des variations. En admettant par ex. qu'entre 144 et 192 h., période de forte production de NH_3 , toute la perte d'N soit à rapporter à l' NH_3 et que toute cette NH_3 soit neutralisée par CO_2 , il correspond à 6 mg. de N ammoniacal 9 mg. 5 de CO_2 . L'Intensité serait donc un peu plus forte. Le Quotient serait beaucoup plus élevé, ce qui renforcerait le raisonnement qui suit.

Pendant cette période, l'Intensité respiratoire diminue, faute de substances oxydables et aussi par suite de la diminution de la quantité de substrat actif. Mais, fait important, le Quotient respiratoire s'élève tandis que la teneur en asparagine diminue. Le Quotient qui, dans la phase précédente, se situait aux environs de 0,8, s'élève régulièrement jusqu'à plus de 0,9 avant la mort. Cette augmentation ne peut être mise en rapport avec la consommation d'acide oxalique puisqu'au contraire le taux de celui-ci s'élève légèrement.

Cette phase correspond à la phase de sénescence de GODWIN H. Elle correspond également à une deuxième partie de la phase protéique de CHIBNALL A. C. Enfin, au moment de la mort, l'Intensité respiratoire se relève légèrement ; il s'agit d'oxydation des principes vacuolaires venus rapidement au contact du protoplasme désorganisé et non d'oxydations biologiques proprement dites (MOYSE A., 1946 b).

Ces résultats confirment ceux obtenus par YEMM avec des feuilles d'Orge.

Expérience II : *Limbes de Haricot d'Espagne.*

Ces limbes proviennent de pieds issus de graines semées le 26 juin 1946. L'expérience débute le 2 septembre au matin. Les plantes, âgées de 68 jours, grimpant le long de tuteurs, ont plus de 2 m. de haut et sont au début de la floraison. Seules, les folioles latérales des feuilles n° 8 (comptées à partir des sommités florales) sont prélevées, avec un fragment de pétiole de 2 cm. environ. Les limbes ont une longueur de 10 ± 1 cm. (surface : 45-50 cm²).

Après lavage, les folioles sont laissées, le pétiole trempant dans le liquide de Knop, à la lumière diffuse.

Après 6 h. de repos environ, elles sont transportées dans une chambre obscure de température constante : $T = 18^{\circ}\text{C}$ et de degré hygrométrique constant : $81^{\circ} \pm 3^{\circ}$.

Les premiers lots, destinés à l'analyse des échanges gazeux sont disposés dans les enceintes respiratoires, sans pétiole, et les lots destinés aux analyses des protides, des glucides et de l'ion oxalique sont fixés, après enlèvement des pétioles. Toutes les

48 heures, les mêmes opérations se répètent sur de nouveaux lots et le liquide de Knop est renouvelé.

Les limbes sont débarrassés des parties brunissantes en fin d'expérience. La durée de séjour dans les enceintes pour les lots utilisés dans les analyses des échanges gazeux est de 47 ± 1 h. Les manipulations de pesées, mises en enceintes, fixations, demandent 1 h. environ et sont toujours faites au même moment de la journée.

Un lot de 10 folioles témoins, baignant par le fragment de pétiole dans 50 cm³ de liquide de Knop, à l'obscurité, permet de suivre les variations du poids de substance fraîche. Le liquide est également renouvelé toutes les 48 h., l'N nitrique et l'N ammoniacal dosés. Il est ainsi possible de déterminer les quantités respectives de ces deux formes azotées apparues ou disparues.

Deux séries d'analyses sont faites sur des lots de limbes témoins restés sur pied.

RÉSULTATS.

1° *Variations de Poids. Teneur en eau. Échanges d'N avec le milieu* (Tableau II A).

Le poids frais des limbes augmente pendant les 48 premières heures, puis diminue régulièrement jusqu'à la fin de l'expérience; à partir de la 192^e h., le départ d'eau est très rapide.

Le poids de substance sèche diminue rapidement. La teneur en eau par rapport à la substance sèche, qui n'a cessé d'augmenter pendant les 192 premières heures, diminue ensuite, mais ne rejoint la teneur initiale qu'après 288 h., au moment de la mort.

L'absorption d'ions NO₃ du milieu de culture est extrêmement faible, il en est de même de l'émission de NH₃ qui, sensible dès la 144^e h., ne devient réellement importante qu'à la mort.

Les variations de poids et de teneur en eau des témoins sont plus faibles que celles dues aux variations individuelles.

2° *Jaunissement* (Tableau II A).

Le jaunissement des limbes débute après 96 h. Encore très peu marqué après 192 h., il s'accélère rapidement ensuite, mais ne devient total qu'après 288 h.

Les tissus privés de chlorophylle restent vivants pendant ce temps. Après 288 h., ils brunissent au moment de la mort.

3° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau II B).

L'I. R., très élevée au début de l'expérience (1,889 cm₃ de CO₂ émis par g. de substance sèche et par heure, en moyenne, pendant les 48 premières heures), diminue constamment jusqu'aux approches de la mort. Elle s'élève un peu à ce moment.

Les témoins laissés à la lumière gardent une I. R. élevée.

Le Q. R., toujours inférieur à l'unité, diminue également au cours du temps, puis s'élève légèrement peu de temps avant la mort. Les témoins conservent un Q. R. voisin de l'unité.

4° *Variations des différentes formes d'Azote et de protides.* (Tableaux II C et II E).

1. *N protéique*. L'N protéique (3,53 % du poids de substance sèche, initialement) diminue très régulièrement, mais beaucoup moins rapidement que dans le cas des limbes de Blé.

Il représente en fin d'expérience 30 % de sa valeur initiale seulement.

2. *N organique soluble* (0,68 % P. S.) augmente jusqu'à la fin de l'expérience, mais toujours d'une quantité un peu moindre que celle dont diminue l'N protéique.

3. *N organique total*, qui totalise les deux formes précédentes, reste constant pendant 96 heures, puis diminue jusqu'à la fin de l'expérience (perte 32 % après 288 h.), traduisant une désamination régulière des protides solubles.

4. *N des amides* (N amidé $\times$ 2). L'N amidé, obtenu par hydrolyse acide des extraits, peut être considéré comme appartenant en quasi-totalité à l'asparagine. CHIBNALL A. C. (1924 *b*) a réussi à isoler des feuilles de Haricot d'Espagne une quantité d'asparagine cristallisée dont l'N correspond à 60-70 % de l'N dosé directement comme amidé, et d'après lui, l'excès d'N amidé dosé peut

être aussi rapporté à l'asparagine ou à des polypeptides en renfermant. Il a montré de plus qu'il n'y avait pas ou très peu de glutamine dans ces feuilles (Je n'ai pas obtenu d'accroissement significatif de l'N ammoniacal après hydrolyse à $\text{pH} = 6,5$).

Il y aurait également fort peu d'allantoïne (CHIBNALL A. C., 1922 a). J'ai donc attribué à l'asparagine la totalité de l'N amidé dosé.

D'après MILLER E. J. (1936) et CHIBNALL A. C. (1939), l'N de l'acide glutamique libéré par hydrolyse des protéines totales des limbes (protéines chloroplastiques et cytoplasmiques (1)) représente en moyenne 6,5 % de l'N total pour diverses Légumineuses et 6,7 % pour les seules protéines cytoplasmiques du Haricot d'Espagne.

L'acide glutamique libéré par la protéolyse, ou bien reste comme tel, ou bien est dégradé, sans donner naissance à de la glutamine.

L'N des amides n'augmente qu'après 96 h., alors que le taux des glucides est très bas, et ne cesse de croître jusqu'à la mort.

D'après MILLER E. J. (1936) et CHIBNALL A. C. (1939), l'N de l'acide aspartique provenant de l'hydrolyse « *in vitro* » des protéines totales de feuilles de diverses Légumineuses représente en moyenne 5 % de l'N protéique total. Pour le Haricot d'Espagne, l'N de l'acide aspartique représente 5,2 % de l'N des seules protéines cytoplasmiques.

Enfin, d'après LUGG J. W. H. et WELLER R. A (1944), 5 % de l'N des protéines de *Medicago sativa* et *M. denticulata* sont de l'N amidé. Les calculs du tableau I D ont été faits sur ces bases. Il en résulte que s'il est possible qu'une partie de l'asparagine formée à l'obscurité provienne de l'hydrolyse directe des protéines et de la conversion d'acide aspartique en amide, une autre partie, après 96 h. ou 144 h., a incontestablement une autre origine, ses chaînons carbonés provenant d'autres amino-acides ou de glucides. Le taux faible de ces derniers incline à faire plutôt admettre l'origine protidique.

5. *N des amino-acides.* L'N des amino-acides augmente jusqu'à la 192^e heure et ne diminue qu'aux approches de la mort. L'origine de son accroissement est évidemment dans la protéolyse. La

(1) L'expression « protéines cytoplasmiques », empruntée à CHIBNALL A. C. (1939), désigne l'ensemble des protéines cytoplasmiques et nucléaires.

dégradation des amino-acides ne masque jamais totalement l'apport d'N aminé que fournit l'hydrolyse protéique.

6. *N « polypeptidique »*. Cette forme azotée au sujet de laquelle il faut faire les réserves qui ont été faites à propos des limbes de Blé, présente des variations irrégulières qui traduisent globalement une diminution au cours du temps.

7. *N ammoniacal*. L' NH_3 , peu importante au début de l'expérience et même pendant 240 h., n'est abondante dans les tissus que dans les derniers moments.

8. *N nitrique*. Il reste en faible quantité et ne présente pas de variations sensibles et interprétables, fait à rapprocher du peu d'N nitrique disparu du milieu de culture.

9. *N total*, stable pendant 96 h., diminue ensuite rapidement, puis plus lentement vers la fin de l'expérience (28 % de perte après 288 h.). Sa diminution est due vraisemblablement à une migration de substances des limbes dans les fragments des pétioles (cf. VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S., 1939 a). Le tableau II E représente les variations des teneurs en protides correspondant à celles de l'N.

Les limbes témoins, prélevés au milieu et en fin de l'expérience, sur les pieds laissés à la lumière, ne montrent pas de variations importantes des différentes formes azotées dosées.

5° Variations des différentes formes glucidiques

(Tableau II C).

Au début de l'expérience, les limbes de Haricot d'Espagne renferment de l'amidon. La fraction insoluble contient de plus environ 1/4 de polyuronates (pectines, pectoses) et de pentosanes (répandues dans les feuilles des espèces du genre *Phaseolus*, d'après WEHMER C., 1911). La réaction à l'orcine dans les extraits aqueux révèle, après hydrolyse, au moins quelques traces de pentoses.

La fraction soluble est plus riche en glucides non réducteurs (saccharose) qu'en réducteurs (glucose, fructose).

1. *Glucides solubles*. La teneur des limbes en glucides solubles

réducteurs s'accroît au cours des premières heures, puis diminue jusqu'à la fin de l'expérience.

La quantité de glucides solubles non réducteurs diminue au contraire rapidement dès le début, lentement ensuite.

2. *Glucides insolubles.* L'amidon disparaît complètement après 48 h., il n'est plus décelable, ni dans les cellules, ni dans les extraits. Les glucides insolubles autres que l'amidon diminuent également en quantité, mais beaucoup moins rapidement.

Les variations du contingent glucidique total (10, 16 % P. S., initialement) traduisent d'abord la disparition de l'amidon, la forte réduction du taux des glucides solubles non réducteurs, puis la diminution plus lente des autres constituants glucidiques métabolisables.

Les limbes témoins restés sur pied, à la lumière, possèdent de l'amidon lors des prélèvements et une teneur générale en glucides comparable à celle des limbes initiaux qui n'ont pas encore séjourné à l'obscurité.

6° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau II C).

Il n'y a que des traces d'oxalates solubles et que de faibles quantités d'oxalates insolubles dans les limbes. Les variations de l'ion oxalique sont peu significatives ; elles traduisent cependant une légère augmentation de sa quantité au cours du temps, dans les limbes à l'obscurité, par rapport aux limbes restés sur pied en pleine terre.

TABLEAU II A

Limbes de Haricot d'Espagne.

Variations de Poids de 10 Limbes, N nitrique disparu, N ammoniacal apparu (en mg.).

1-2-3-4-5-6-7-8 : Limbes à l'obscurité, T = 18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1 2 sept. 0 h.	2 4 sept. 48 h.	3 6 sept. 96 h.	4 8 sept. 144 h.	5 10 sept. 192 h.	6 12 sept. 240 h.	7 14 sept. 288 h.	8 16 sept. 336 h.	A 9 sept.	B 14 sept.
Substance fraîche.....	8.033	8.872	8.650	8.211	7.740	6.980	5.727	5.224	8.031	8.020
Substance sèche.....	1.154	1.065	976	921	863	804	776	738	1.188	1.176
N NO ₃ disparu.....		0,49	0,42	0,44	0,40	0,34	0,44	1,62		
N NH ₃ apparu.....		0	0	0,09	0,19	0,20	0,20	1,96		
Teneur en eau pour 100 de substance sèche.										
	596	733	786	791	797	768	638	607	576	582
Surface jaunie/surface totale.										
				1/10	2/10	5/10	1	Début de brunisse- ment et mort		

TABLEAU II B

*Limbes de Haricot d'Espagne.***Intensités et Quotients respiratoires**1° I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par 10 Limbes et par heure.

1-2-3-4-5-6-7-8 : Limbes à l'obscurité, T = 18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	2-4 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.	7-8 288-336 h.	A 0-48 h.	B 0-48 h.
CO ₂	2,095	1,422	1,278	1,071	0,971	0,886	1,117	2,396	2,135
O ₂	2,253	1,646	1,486	1,334	1,211	1,110	1,356	2,546	2,319
Q. R.	0,930	0,863	0,858	0,803	0,799	0,796	0,823	0,946	0,921
2° mg. de CO ₂ émis par 10 Limbes pendant 48 h.									
	197,56	134,09	120,51	100,99	91,56	83,55	105,33		

Les nombres représentent la moyenne de 3 mesures faites sur 3 lots prélevés simultanément.

TABLEAU II C

*Limbes de Haricot d'Espagne.***Variations des principales formes d'Azote, des Glucides et de l'Ion oxalique (en mg. pour 10 limbes)**

1-2-3-4-5-6-7 : Limbes à l'obscurité, T = 18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied, en pleine terre, à la lumière.

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 240 h.	7 288 h.	A	B
N protéique	40,70	37,16	32,54	27,46	22,14	16,35	12,76	45,23	44,29
N organ. sol.	7,88	10,14	15,55	13,27	15,51	19,23	20,33	6,22	6,28
N. tot. des Amides .	1,96	1,88	4,06	3,59	4,84	8,24	11,44	2,28	1,90
N des Amino-acides	2,55	7,12	7,45	7,85	9,33	9,31	7,65	2,80	2,88
N polypeptid.	2,62	1,32	0,73	1,41	1,81	0,98	1,20	1,69	1,72
N organ. total	48,58	47,30	48,09	40,73	37,65	35,58	33,09	51,45	50,57
N (NH ₃)	0,42	0,39	0,34	0,28	0,26	0,36	1,71	0,52	0,31
N (NO ₃)	0,46	0,59	0,63	0,43	0,35	0,29	0,74	0,47	0,41
N total	49,46	48,28	49,06	41,44	38,26	36,23	35,54	52,44	51,29
Amidon et Hémicell.	69,87	17,84	14,37	9,80	4,39	3,43	2,06	66,79	59,83
Autres Gl. insolubles.	24,35	12,20	11,54	14,02	9,47	8,09	6,29	27,68	19,65
Gl. sol. non réd.	16,33	5,84	2,97	3,53	4,64	0,41	2,93	15,18	12,64
Gl. sol. réd.	6,68	8,48	6,59	4,81	3,38	4,06	2,45	5,83	6,80
Gl. totaux	117,23	44,36	35,47	32,16	21,83	15,99	13,73	115,48	98,92
Ion oxal. (en acide)	1,27	1,13	2,93	4,06	4,56	4,16	5,68	0,80	1,02

TABLEAU II D

Limbes de Haricot d'Espagne.

Gains ou pertes de l'Azote des Amides
(en mg. pour 10 Limbes).

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.
N des Amides totales .	— 0,08	+ 2,18	— 0,47	+ 1,25	+ 3,40	+ 3,20
N des Amides dér. de l'Ac. aspart. (5 % × 2)	+ 0,36	+ 0,46	+ 0,50	+ 0,54	+ 0,58	+ 0,36
Différence	—	+ 1,72	—	+ 0,71	+ 2,82	+ 2,84
N des Amides dér. des prot. (5 % × 2)	+ 0,36	+ 0,46	+ 0,50	+ 0,54	+ 0,58	+ 0,36

TABLEAU II E

Limbes de Haricot d'Espagne.

Variations des principaux groupes protidiques
(en mg. pour 10 Limbes).

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 240 h.	7 288 h.
Protéines + poly- peptides (N × 6,25)	271	240	208	180	149	108	87
Asparagine (N × 4,71)	9	9	19	17	23	39	54
Amino-acides (N × 8)	20	57	60	63	75	74	61
Protides totaux ..	300	306	287	260	247	221	202

TABLEAU II F

*Limbes de Haricot d'Espagne.***Bilan de Carbone** (en mg. pour 10 Limbes).

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.
C Protéines + Polypeptides	- 15	- 16	- 14	- 16	- 20	- 11
C Asparagine	0	+ 4	- 1	+ 2	+ 6	+ 5
C Amino-acides	+ 15	+ 1	+ 1	+ 5	0	- 6
C d'origine protidique	0	- 11	- 14	- 9	- 14	- 12
C Glucides	- 31	- 4	- 2	- 5	- 2	- 1
C Ac. oxalique	traces	+ 1	traces	traces	traces	+ 1
C perdu total calculé ..	- 31	- 14	- 16	- 14	- 16	- 12
C perdu mesuré (respiration).....	- 53	- 36	- 32	- 27	- 25	- 23

Interprétation (Fig. II a, II b, II c, Tableau II F).

Les données du tableau II F, représentant le Bilan des pertes et gains de Carbone suivant ses diverses origines, établi suivant le même principe que le Bilan carboné des limbes de Blé, appellent quelques réserves : les différences entre les pertes de Carbone calculées d'après la production de CO_2 et les pertes calculées d'après les analyses des différents groupes de substances examinées sont très importantes, de l'ordre de 50 % en moyenne.

Ce n'est pas la première fois que l'on rencontre une telle discordance entre les deux modes de calcul. WOOD J. G., MERCER F. V. et PEDLOW C. (1944), expérimentant avec les feuilles de Kikuyu, observent des divergences du même ordre.

VICKERY H. B. et PUCHER G. W. (1939) ne faisant le bilan de Carbone que d'après les analyses de substances des feuilles de Rhubarbe, trouvent après 261 h. de séjour à l'obscurité, plus de Carbone qu'après 165 h.

Ces anomalies sont dues à la fois aux erreurs de dosage, à la non exactitude des coefficients utilisés pour le calcul, à l'échantillonnage défectueux, à la non-homogénéité des lots qui, pour le Haricot d'Espagne, sont beaucoup plus difficiles à constituer d'une manière satisfaisante que pour le Blé.

On peut également supposer que d'autres glucides, non aisément extraits par les solvants, mais aisément hydrolysables et oxydables « *in vivo* », sont à la source de l'excédent de Carbone perdu dans les oxydations respiratoires, par rapport aux pertes calculées d'après les dosages de substances.

COMBES R. et KOHLER D. (1922 *b*) ont montré que les feuilles de Hêtre et de Marronnier, jaunissant sur l'arbre ou sur des rameaux détachés de l'arbre, pouvaient s'enrichir en glucides dosables, par une telle voie.

Ces réserves étant faites, voici ce que l'on peut cependant proposer. Les limbes adultes de Haricot d'Espagne, en inanition glucidique à l'obscurité, sur liquide de Knop, absorbent de l'eau pendant une longue période (192 h.). Ils en perdent ensuite et retrouvent à peu près leur teneur initiale après 288 h., au moment de leur mort.

Le cours des phénomènes respiratoires peut être décrit ainsi : (Fig. II *a*, II *b* et II *c*).

1^o Pendant les premières 48 h., les glucides seuls, ou à peu près seuls, sont oxydés, quoique la protéolyse soit déjà notable. Mais si les protéines subissent une hydrolyse partielle, les amino-acides qui en dérivent ne sont pas oxydés. La disparition de l'amidon et l'oxydation glucidique caractérisent cette période pendant laquelle l'Intensité respiratoire est très élevée, fait à mettre en relation avec l'afflux des glucides solubles ; le Quotient est voisin de l'unité. Cette période correspond à la phase de « floating respiration » de GODWIN H., à la phase glucidique de CHIBNALL A. C.

2^o Après 48 h., la teneur des limbes en glucides est faible, les glucides insolubles autres que l'amidon fournissent peu d'oses aisément oxydables.

Par contre, l'hydrolyse protéique très active donne naissance à des chaînons carbonés dont l'oxydation fournit une partie importante du CO₂ émis. Ces chaînons d'amino-acides sont désaminés et l'NH₃ qui en résulte est fixée sous forme d'asparagine, de sorte que la teneur en Azote reste constante, bien que le Carbone qui lui est lié diminue quantitativement. L'asparagine représente, comme

dans les limbes de Blé, la forme organique de stockage de l'N, étant donné son rapport $\frac{N}{C}$ élevé.

L'I. R., bien qu'inférieure à l'I R. de la phase précédente, reste encore élevée (1,3-1,4 cm₃ de CO₂ % P. S.), en relation avec l'afflux toujours important de substances solubles oxydables. Le Q. R. plus bas, souligne la nature protidique de ces dernières ainsi que la genèse d'asparagine et même d'acide oxalique.

Cette période correspond à la phase protoplasmique de GODWIN H., au début des phases protéique de CHIBNALL A. C. et « climateric » de WOOD J. G.

3^o Vers 144 h., les limbes commencent à jaunir. La teneur en protéines a diminué depuis le début de 30 %. La perte protéique est faible en comparaison de celle qu'ont subi les limbes de Blé dans le même temps. Ce fait est à rapprocher de la plus grande teneur en glucides des limbes de Haricot. La perte d'N protidique est de 16 %.

La protéolyse et l'oxydation des amino-acides se poursuivent, les protides fournissant la majeure partie du Carbone émis dans la respiration. Avant la mort, les protéines atteignent un taux très bas (perte de N : 70 %), voisin de celui trouvé pour les limbes de Blé. Par contre, l'oxydation protidique a été relativement plus faible (perte de N : 30 %). La teneur en asparagine continue à augmenter. Corrélativement, peu de NH₃ est mise en liberté et moins d'N est perdu. L'asparagine, dans les cellules, a une stabilité parallèle à celle qu'elle présente vis-à-vis des réactifs hydrolysants, si on la compare à la glutamine.

Sa formation, liée en partie à la dégradation des amino-acides qui fournissent l'N, n'apparaît pas indépendante de la présence de glucides. S'ils ne procurent pas les chaînons carbonés nécessaires à sa genèse, ils exercent vis-à-vis d'elle, comme vis-à-vis des protéines, une « action d'épargne ». Cette action peut être simplement rapportée à leur plus grande facilité d'oxydation dans les cellules. Pendant cette période de jaunissement, l'I. R. décroît sans cesse, le Q. R. également, exprimant l'oxydation prépondérante des protides et la genèse de l'asparagine.

Cette phase correspond à la phase de sénescence de GODWIN H., elle appartient également à la phase protéique de CHIBNALL A. C. et à la phase « climateric » de WOOD J. G.

La plus grande richesse en glucides des tissus de Haricot par rapport à ceux de Blé, leur plus grande aptitude à former l'asparagine, amide stable, expliquent que leur intoxication par NH_3 soit plus tardive. Le Q. R. traduit pendant les 144 premières heures une oxydation plus intense des glucides, par comparaison avec celle que présentent les limbes de Blé.

Peu avant la mort seulement, l'asparagine accumulée commence à s'oxyder. Les processus précédents se poursuivent, mais l' NH_3 formée n'est ni neutralisée, ni rapidement évacuée vers les pétioles.

L'I. R. s'accroît au moment de la désorganisation du protoplasme, le Q. R. s'élève légèrement par suite de l'oxydation de l'asparagine.

Expérience III : *Limbes de Sarrasin.*

Ces limbes proviennent de pieds issus de graines semées le 12 avril 1946. L'expérience débute le 7 juillet, les plantes âgées de 86 jours sont en pleine floraison.

Les limbes choisis (n° 6 comptés à partir de la base) ont 7 à 8 cm. de long (surface 35-40 cm^2).

Après lavage, les limbes auxquels a été laissé attaché un fragment de pétiole de 2 cm. environ, sont abandonnés à la lumière diffuse sur liquide de Knop. Après 6 h. de repos, les limbes sont transportés dans la chambre obscure à température constante : $T = 17^\circ 5 - 18^\circ \text{C}$, et d'état hygrométrique constant : $84^\circ \pm 2^\circ$. Les opérations se poursuivent comme dans l'expérience précédente. La durée du séjour dans les enceintes des lots destinés à l'analyse des échanges gazeux, est de 45 ± 3 h.

Un lot de 10 limbes témoins permet de suivre les variations de poids frais et de déterminer les variations d'N nitrique et d'N ammoniacal dans le milieu liquide.

Deux séries d'analyses, sur lots témoins restés sur pied, sont faites comme dans les expériences précédentes.

RÉSULTATS

1° *Variations de poids. Teneur en eau. Echanges d'N avec le milieu* (Tableau III A).

Le poids de substance fraîche augmente pendant les 96 premières heures, puis diminue lentement jusqu'à la 240^e heure et rapidement

ensuite jusqu'à la mort. Le poids de substance sèche diminue régulièrement.

La teneur en eau, qui s'est élevée au début, décroît ensuite et rejoint sa valeur initiale au moment de la mort.

L'absorption d'ion NO_3^- du milieu de culture est très faible et l'émission de NH_3 ne devient sensible qu'à l'approche de la mort. Les poids et teneurs en eau des témoins laissés sur pied restent à peu près constants.

2° *Brunissement* (Tableau III A).

Il n'y a pas à proprement parler de jaunissement des feuilles. La pigmentation verte s'atténue, passe par le brun vert et s'assombrit progressivement. Les limbes sont entièrement de teinte vert foncé après 144 h. Ce brunissement rappelle celui que subissent les feuilles de Haricot ou d'Oseille traitées par les vapeurs d'éther (MOYSE A., 1946 b). Après la mort, les tissus deviennent translucides.

3° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau III B).

L'I. R. diminue régulièrement et rapidement. Après 144 h. elle s'établit à 40 % de sa valeur initiale, s'élève légèrement après 192 h. et de nouveau au moment de la mort. Le Q. R., supérieur à l'unité pendant les 96 premières heures, diminue légèrement jusqu'à la 240^e h., s'élève ensuite jusqu'à la mort, mais tout en restant inférieur à 1.

4° *Variations des différentes formes d'Azote et de protides.* (Tableaux III C et III E).

1. *N protéique*. L'N protéique (4,13 % P.S., initialement), diminue régulièrement, mais représente encore les 2/3 de la teneur initiale au moment de la mort.

2. *N organique soluble* (0,41 % P. S., initialement) augmente jusqu'à la mort, mais d'une quantité toujours plus faible que celle qui correspond à la diminution de l'N protéique.

3. *N organique total*, qui totalise les deux formes précédentes, reste constant pendant les 48 premières heures, puis diminue régulièrement. A la mort, 25 % de l'N protidique initial ont disparu, traduisant une désamination régulière, peu intense.

4. *N des amides* ($N \text{ amidé} \times 2$). L' N amidé total (l' N amidé instable n'est pas décelé) peut être rapporté à l'asparagine. L' N des amides se maintient en faible quantité; sur la base moyenne de 5,5 % pour la teneur en Azote correspondant à l'acide aspartique dans les hydrolysats de protéines de plantes herbacées (CHIBNALL A. C., 1939), on peut affirmer que l' N des amides représente au plus la totalité des amides dérivées directement de la protéolyse ou de la conversion de l'acide aspartique (Tableau III D).

5. *N des amino-acides*. La teneur en N des amino-acides croît jusqu'à la 192^e h., puis diminue nettement aux approches de la mort.

L'origine des amino-acides se situe dans la protéolyse et la désamination n'en masque l'apport que pendant les dernières heures.

6. *N « polypeptidique »*. Ses quantités sont très faibles et par suite il n'est pas possible d'en suivre les variations.

7. *N ammoniacal*. Peu important au début de l'expérience, il s'accroît pendant le brunissement, après 144 h. Son taux est décuplé au moment de la mort.

8. *N nitrrique* est toujours présent en faible quantité. En fin d'expérience, son taux s'élève légèrement, mais il ne peut rien être proposé quant à son origine, en présence de quantités aussi réduites.

9. *N total*. L' N total diminue après 96 h., la perte est relativement faible (17%) au moment de la mort. Une partie de cet N perdu se retrouve dans le milieu de culture, l'autre doit provenir de la migration de substances azotées solubles (NH_3 en particulier) dans les fragments des pétioles.

Le tableau III E représente les variations des teneurs en différents protides, calculées d'après celles des différentes formes de l' N .

Les limbes témoins, prélevés sur pied, au milieu et à la fin de la durée de l'expérience, ne montrent aucune variation caractéristique des différentes formes azotées étudiées.

5° Variations des différentes formes glucidiques (Tableau III C).

Les limbes de Sarrasin renferment de l'amidon. La fraction insoluble comprend aussi des polyuronates divers, pectines, pec-

toses, pentosanes, générateurs d'oses réducteurs. L'hydrolysat de l'extrait aqueux à la température ordinaire, donne avec l'orcin en milieu chlorhydrique, la coloration bleue caractéristique des pentoses.

La fraction soluble est plus riche en oses réducteurs qu'en oses non réducteurs. Parmi ces derniers, il a été signalé la présence de rutoside, hétéroside flavonique dont l'hydrolyse fournit du rhamnose, du glucose et du quercétole (COUCH. J. F., NAGHS M. J. et KREWSON C. F. (1946), PARIS R. (1949)).

1. *Glucides solubles*. La teneur en glucides solubles réducteurs diminue très rapidement au début du séjour à l'obscurité, lentement ensuite.

Les glucides solubles non réducteurs présentent également une diminution au début de l'expérience, mais moins massive, et leur teneur reste constante après 96 h.

2. *Glucides insolubles*. L'amidon disparaît rapidement des tissus des limbes. Après 48 h., il n'est plus décelable microscopiquement. Les glucides insolubles autres que l'amidon diminuent en quantité également, mais plus lentement.

Les variations du contingent glucidique total (8,96 % P. S., initialement) traduisent les fortes diminutions des teneurs en amidon et glucides réducteurs dans les 48 premières heures, puis une lente décroissance jusqu'à la mort.

Les limbes témoins, restés sur pied à la lumière, présentent peu de variations quantitatives et qualitatives du contingent glucidique au cours de la même période.

6° Variations de l'ion oxalique (Tableau III C).

1. *Les oxalates solubles* constituent une part importante (1,58 % P. S.) des substances dissoutes des liquides cellulaires. Les variations de teneur sont faibles et irrégulières.

2. *Les oxalates insolubles* (oxalate de Calcium) en cristaux isolés ou maclés en oursins représentent 5,72 % du poids de substance sèche. Leur teneur augmente légèrement jusqu'au brunissement final.

Les limbes restés sur pied ne présentent pas à ce sujet de variations significatives.

TABLEAU III A

*Limbes de Sarrazin.***Variations de Poids de 10 Limbes, N nitrique disparu, N ammoniacal apparu (en mg.).**

1-2-3-4-5-6-7-8 : Limbes à l'obscurité, T = 17°5-18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1 7 juill. 0 h.	2 9 juill. 48 h.	3 11 juill. 96 h.	4 13 juill. 144 h.	5 15 juill. 192 h.	6 17 juill. 240 h.	7 19 juill. 288 h.	8 21 juill. 336 h.	A 13 juill.	B 20 juill.
Substance fraîche.....	5.722	6.715	6.575	6.525	6.310	5.910	5.020	4.223	5.760	6.079
Substance sèche	770	738	715	692	681	663	649	632	852	890
N NO ₃ disparu		0,14	0,80	0,77	0,86	0,58	0,60	0,60		
N NH ₃ apparu		0,28	0,26	0,31	0,58	1,08	1,7	1,8		
Teneur en eau pour 100 de substance sèche.										
	643	809	820	843	826	811	673	568	576	583

Les limbes ne jaunissent pas, ils noircissent (vert-brun) après 144 h. sur toute leur surface et meurent en virant au brun-marron. Mort le 19 juillet.

TABLEAU III B

*Limbes de Sarrasin.***Intensités et Quotients respiratoires**1° I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par 10 Limbes et par heure.

1-2-3-4-5-6-7-8 : Limbes à l'obscurité, T = 17°5-18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.	7-8 288-336 h.	A 0-48 h.	B 0-48 h.
CO ₂	0,837	0,559	0,404	0,315	0,344	0,292	0,363	0,913	1,002
O ₂	0,760	0,504	0,431	0,368	0,385	0,293	0,408	0,838	0,932
Q. R.	1,101	1,108	0,937	0,855	0,893	0,996	0,889	1,089	1,075

2° mg. de CO₂ émis par 10 Limbes pendant 48 h.

78,93	52,71	38,10	29,70	32,44	27,54	34,23	
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	--

Les nombres représentent la moyenne de 3 mesures faites sur 3 lots prélevés simultanément.

TABLEAU III C

*Limbes de Sarrasin.***Variations des principales formes d'Azote,
des Glucides et de l'Ion oxalique (en mg. pour 10 Limbes)**

1-2-3-4-5-6-7 : Limbes à l'obscurité, T = 17°5-18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 240 h.	7 288 h.	A	B
N protéique	31,83	28,19	27,45	23,74	22,34	21,28	29,66	33,85	34,49
N organ. sol.	3,15	4,28	5,01	5,40	6,13	5,77	6,10	3,75	3,80
N tot. des Amides .	0,58	0,52	0,57	0,55	0,68	0,66	1,56	0,70	1,08
N des Amino-acides	2,60	3,43	3,93	3,87	5,11	4,31	3,89	2,95	2,82
N polypept.	traces	0,59	0,43	0,62	0,75	0,79	0,71	0,17	0,09
N organ. total	34,98	32,47	32,46	29,14	28,47	27,05	25,76	37,60	38,29
N (NH ₃)	0,14	0,22	0,21	0,55	0,82	1,20	1,88	0,47	0,18
N (NO ₃)	0,54	0,52	0,57	0,62	0,81	1,19	1,43	0,35	0,36
N total	35,66	33,21	33,24	30,31	30,10	29,44	29,07	38,42	38,83
Amidon et Hémicell.	10,56	5,90	4,43	4,26	2,25	2,57	2,70	10,38	14,32
Autres Gl. insolubles	13,48	11,88	9,80	7,09	4,56	4,40	7,39	8,56	8,12
Gl. sol. non réd. ...	16,20	10,96	3,54	4,05	2,61	2,18	1,15	12,91	8,94
Gl. sol. réd.	28,74	9,08	8,08	6,30	6,22	3,65	1,87	30,39	28,56
Gl. totaux	68,98	37,82	25,85	21,70	15,64	12,80	13,11	62,24	59,94
Ion oxal. sol.	12,17	16,68	15,87	13,15	21,04	16,71	17,13	17,89	13,35
Ion oxal. insol.	44,04	42,62	47,92	52,25	53,93	46,01	49,84	56,66	57,05
Ion oxal. total (en acide)	56,21	59,30	63,79	65,40	74,97	62,72	66,97	74,55	70,40

TABLEAU III D

*Limbes de Sarrasin.***Gains ou pertes de l'Azote des Amides**

(en mg. pour 10 Limbes).

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.
N des Amides totales .	— 0,06	+ 0,05	— 0,02	+ 0,13	— 0,02	+ 0,90
N des Amides dér. Ac. glut. et asp. (11,5 %) .	+ 0,42	+ 0,09	+ 0,43	+ 0,16	+ 0,12	+ 0,19
N des Amides dér. des Prot. (5 % × 2).....	+ 0,36	+ 0,07	+ 0,37	+ 0,14	+ 0,11	+ 0,16

TABLEAU III E

*Limbes de Sarrasin.***Variations des principaux groupes protidiques**

(en mg. pour 10 Limbes).

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 240 h.	7 288 h.
Protéines + Poly- peptides (N × 6,25)	199	180	172	152	144	138	127
Asparagine et Glu- tamine (N × 5) ...	3	3	3	3	3	3	8
Amino-acides N × 8)	21	27	31	31	41	35	31
Protides totaux ..	223	210	206	186	188	176	166

TABLEAU III F

Limbes de Sarrasin.

Bilan de Carbone
(en mg. pour 10 Limbes).

	1-2 0-48	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-240 h.	6-7 240-288 h.
C Protéines + Polypeptides	— 10	— 4	— 10	— 4	— 3	— 5
C Amides	0	0	0	0	0	+ 2
C Amino-acides	+ 3	+ 1	0	+ 4	— 2	— 2
C d'origine protidique	— 7	— 3	— 10	0	— 5	— 5
C Glucides	— 12	— 5	— 2	— 2	— 2	+ 1
C Ac. oxalique	+ 1	+ 1	+ 1	+ 2	— 3	+ 1
C perdu total calculé ..	— 18	— 7	— 11	0	— 10	— 3
C perdu mesuré (respiration)	— 21	— 14	— 10	+ 8	— 9	— 7

Interprétation (Fig. III a, III b, III c, Tableau III F).

Le Tableau III F représente le Bilan des pertes et gains de Carbone suivant ses diverses origines.

Si l'on ne tient pas compte de l'anomalie présentée dans le Bilan Carboné entre 144 et 192 h. et qui peut être imputée aux erreurs expérimentales, les remarques suivantes peuvent être faites :

Au cours de l'inanition glucidique, à l'obscurité, les limbes de Sarrasin conservés sur milieu de Knop absorbent de l'eau pendant la première partie de l'expérience et en perdent ensuite. Au moment de la mort, la teneur en eau est redevenue voisine de la teneur initiale.

Le cours des phénomènes respiratoires peut être décrit ainsi : (Fig. III b et III c).

1^o Pendant près de 96 h., les glucides, seuls ou presque, fournissent le Carbone perdu sous forme de CO₂. A la fin de cette phase, les protéines ont subi une hydrolyse notable et les produits qui en dérivent ont également participé à la fourniture du CO₂ respiratoire. La disparition de l'amidon et la prédominance de l'oxydation glucidique caractérisent cette période, l'I. R. décroît en même temps que le taux des glucides. Le Q. R. mesuré reste élevé,

plus élevé d'ailleurs que le Quotient calculé d'après les pertes de substance.

Cette période correspond en grande partie à la « floating phase » de GODWIN H. et à la phase glucidique de CHIBNALL A. C.

2° Après 96 h., la teneur des limbes en glucides est très basse et la consommation glucidique faible. La protéolyse et l'oxydation des protides fournissent une grande partie du Carbone perdu, mais ces deux phénomènes sont nettement moins intenses que dans les expériences précédentes sur les limbes de Blé et de Haricot. La production de NH_3 par désamination des amino-acides est également plus faible. De plus, à aucun moment, il n'y a accumulation d'amides. Une partie de l' NH_3 émigre vers les parties basales des feuilles.

L'I. R. est très faible, en relation avec la faiblesse relative de l'afflux de substances solubles aisément oxydables. Le Q. R. est plus bas que précédemment, traduisant l'oxydation des protides.

Cette période, mal distincte de la précédente dans le cas présent, correspond à la phase protoplasmique de GODWIN H. et à la phase protéique de CHIBNALL A. C. (La « climateric respiration » de WOOD J. G., caractérisée par la formation d'amides en surcroît de la protéolyse, n'est pas représentée.)

3° Après 192 h., la dégradation de la chlorophylle s'accélère et les processus caractéristiques de la phase précédente se poursuivent sans modification. Au moment de la mort, seulement 34 % de l'N protéique initial ont disparu. Il n'est pas possible, en l'absence du jaunissement, de faire la part des protéines chloroplastiques et « cytoplasmiques » disparues. Les dégradations sont lentes, l'I. R. très bas, le Q. R. traduit juste avant la mort une oxydation de substances à Quotient de combustion plus élevé que celui des protides, mais les variations de l'ion oxalique sont trop irrégulières pour lui attribuer de façon certaine l'augmentation du Q. R. Cette phase de *sénescence* est difficile à distinguer de la précédente, le signe le plus visible habituellement, le jaunissement, étant absent.

Au moment de la mort, l'I. R. croît quelque peu, les liquides vacuolaires, venant au contact des éléments protoplasmiques désorganisés, entraînant avec eux les substances oxydables dissoutes qu'ils renferment.

Expérience IV : *Limbes d'Oseille.*

Ces limbes proviennent de pieds développés en rosette. L'expérience débute le 19 septembre 1946, au matin. Les feuilles prélevées ont le bord du limbe déroulé, les limbes sont longs de 10-11 cm. (surface 55-60 cm²).

Les feuilles sont cueillies avec 2 cm. environ de pétiole, laissées au repos dans les mêmes conditions que dans les expériences précédentes, puis transportées dans la chambre à température constante : $T = 18^{\circ} \text{C}$ et de degré hygrométrique constant $= 86^{\circ} \pm 4^{\circ}$.

La durée de séjour dans les enceintes respiratoires pour les lots destinés à l'analyse des échanges gazeux est de $46 \pm 1 \text{ h.}$, sauf pour les derniers qui n'y ont séjourné que pendant 23 h.

L'expérience a été plus courte que les précédentes en raison de la plus grande fragilité des limbes.

Un lot témoin de 10 feuilles permet de suivre les variations de poids frais et les variations de l'N nitrique et de l'N ammoniacal du milieu liquide.

Deux séries d'analyses sur des lots de limbes témoins, restés sur pied, ont été faites, comme dans les expériences précédentes.

RÉSULTATS.

1^o *Variations de poids. Teneur en eau. Echanges d'N avec le milieu* (Tableau IV A).

Le poids de substance fraîche augmente pendant les 144 premières heures, les limbes absorbant une quantité considérable d'eau ; avant la mort, un départ de liquide se manifeste. Cependant au moment de la mort, la teneur en eau est supérieure à la teneur initiale des limbes.

L'absorption d'ions NO_3 du milieu de culture est sensible au début du séjour à l'obscurité, elle accompagne l'absorption d'eau, l'émission de NH_3 est très faible jusqu'à la mort.

Les variations de poids et de teneur en eau des témoins sont faibles et ne dépassent pas la marge des variations individuelles des limbes.

2° *Jaunissement* (Tableau IV A).

Le jaunissement des limbes d'Oseille est précoce, comme celui des limbes de Blé. Après 96 h., il apparaît sur le bord externe et le long de la nervure principale. Il gagne très rapidement toute la surface des limbes qui, après 192 h., meurent et brunissent très rapidement.

Les limbes d'Oseille sont beaucoup plus fragiles que les limbes précédemment étudiés et leur temps de survie à l'obscurité plus court de moitié.

3° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau IV B).

L'I. R., basse au début de l'expérience (0,764 cm³ de CO₂ émis % P. S.), se maintient constante jusqu'à la 144^e heure, puis s'élève brusquement pendant la période de jaunissement. Elle est double de l'initiale au moment de la mort.

Cet accroissement, constaté également par POPOV K. J. (1944-1945) est à rapprocher de celui que THODAY D. et RICHARDS K. M. (1944) ont mis en évidence avec les feuilles de *Kleinia radicans* séjournant à l'obscurité.

L'accroissement du taux des oxydations se poursuit après la mort. Le Q. R. reste inférieur à l'unité pendant presque toute la durée de l'expérience. Après une diminution légère, il s'élève quelque peu au moment de la mort.

4° *Variations des différentes formes d'Azote et de Protides.*

(Tableaux IV C et IV E).

1. *N protéique*. La teneur initiale en N protéique (3,70 % P. S.) diminue très rapidement. Cependant, au moment de la mort, l'N protéique atteint encore 50 % de sa première valeur.

La protéolyse atteint à la fois vraisemblablement les protéines chloroplastiques et les protéines du cytoplasme.

2. *N organique soluble*. La quantité initiale de l'N organique soluble (0,40 % P. S.) s'élève au cours des 144 premières heures, mais beaucoup moins rapidement que ne l'indiquerait la protéolyse ; ensuite elle diminue.

3. *N organique total*. Pendant les 48 premières heures, la teneur en N organique total diminue peu. Ensuite la désamination est rapide et au moment de la mort, l'N organique total a perdu à peu près 40 % de sa valeur initiale. Il est tombé de 90 % à 64 % de l'N total en 192 heures.

4. *N des amides* ($= N \text{ amidé} \times 2$). L'N amidé total provient d'amides instables et d'amides stables qui n'ont pas été dosées séparément, étant donné leur faible quantité. Il est doublé après 96 h., puis diminue rapidement après 144 h. Ses variations sont parallèles à celles de l'N soluble total dont il représente environ le $1/4$, mais sa chute finale est plus rapide que celle des autres constituants azotés solubles, ce qui peut être dû à la présence d'amides instables comme la glutamine.

Il est possible de calculer quelle est la quantité d'amides qui peut provenir de la conversion des acides aspartique et glutamique (Tableau IV D). Le calcul de la quantité d'amides libérées directement par la protéolyse a été fait sur les mêmes bases que dans les expériences précédentes ($5,75 \times 2$).

Les quantités de l'N des amides dosées sont plus faibles que celles qui peuvent ainsi dériver des protéines et il n'est pas possible d'envisager pour cet N amidé une autre origine.

5. *N des amino-acides*. La teneur en N des amino-acides augmente jusqu'à la 144^e h., puis diminue en raison de l'oxydation protidique qui s'accompagne d'une désamination.

6. *N polypeptidique*. Ses variations sont parallèles à celles de l'N des amino-acides.

7. *N ammoniacal*. L'N ammoniacal atteint des teneurs très élevées, même dans les premières analyses. Peut-être une partie provient-elle, au début même de l'expérience, de l'hydrolyse d'une amide instable comme la glutamine, dégradée au cours de la période de repos ou des manipulations.

La teneur d'N ammoniacal augmente jusqu'à la mort, atteignant plus du $1/3$ de l'N total.

Cependant, les extraits ont toujours une réaction acide, due à l'acide oxalique présent.

8. *N nitrique*. La teneur en N nitrique est peu variable et son

augmentation au début de l'expérience est en liaison avec l'absorption d'ion nitrique du milieu de culture.

9. *N total*. En fin d'expérience, la diminution du taux de l'N total est très sensible, il ne représente que 75 % de l'N total initial. Une partie se trouve sous forme d' NH_3 dans le milieu de culture, une autre doit se trouver éliminée avec les fragments des pétioles.

Le tableau IV E représente les variations des teneurs en protides correspondant aux variations des différentes formes azotées.

Les limbes témoins prélevés sur les pieds restés à la lumière, au milieu et à la fin de l'expérience, ne présentent pas de variations importantes des différentes formes azotées, mais l' NH_3 y est toujours abondante.

5° *Variations des différentes formes glucidiques* (Tableau IV C).

Les limbes d'Oseille renferment de l'amidon. La fraction insoluble comprend également des polyuronates (pectines, pectoses) dont les hydrolysats donnent la réaction colorée bleue des pentoses, avec l'orcine en milieu chlorhydrique. La fraction soluble des glucides est plus riche en glucides non réducteurs qu'en glucides réducteurs.

1. *Glucides solubles*. La teneur en glucides solubles réducteurs ne diminue qu'après 144 h., la quantité de glucides solubles non réducteurs, par contre, diminue très rapidement dès le début de l'expérience.

2. *Glucides insolubles*. L'amidon disparaît dans les 48 premières heures, les autres glucides insolubles diminuent également au cours de l'expérience, mais plus lentement.

Les variations du contingent glucidique total (6,05 % P. S., initialement) indiquent une diminution de 50 % pendant les 48 premières heures, puis une chute plus lente, mais continue.

6° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau IV C).

Les formes solubles de l'ion oxalique (acide libre, oxalates acides, oxalates alcalins ou de NH_4) constituent une partie importante des métabolites au début de l'expérience (3,54 % P. S.). Les formes insolubles : oxalate de Calcium, en cristaux isolés ou en oursins sont également bien représentées (3,53 % P. S.).

Voici, à titre de comparaison, les teneurs indiquées par BERTHELOT M. et ANDRÉ G. (1886 a) dans les limbes d'Oseille :

Acide oxalique et oxalates solubles 6,70 % P. S.
Oxalates insolubles 5,37 % P. S.

L'acide oxalique représenterait 1/3 environ de l'ion oxalique total (PURDIE I. A., 1927).

1. *Acide et oxalates solubles*. L'ion oxalique soluble décroît en quantité au cours de l'expérience, rapidement même au début.

2. *Oxalates insolubles*. L'ion oxalique insoluble, de teneur constante pendant les 144 premières heures, décroît ensuite.

La teneur en ion oxalique total, qui totalise les deux formes, décroît du début à la fin de l'expérience.

TABLEAU IV A

Limbes d'Oseille.

**Variations de poids de 10 Limbes, N nitrique disparu,
N ammoniacal apparu (en mg.).**

1-2-3-4-5-6 : Limbes à l'obscurité, T = 18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1 19 sept. 0 h.	2 21 sept. 48 h.	3 23 sept. 96 h.	4 25 sept. 144 h.	5 27 sept. 192 h.	6 28 sept. 216 h.	A 24 sept.	B 29 sept.
Substance fraîche	25.169	28.284	31.163	32.205	27.985	23.669	26.002	24.952
Substance sèche	1.847	1.715	1.662	1.581	1.510	1.403	1.868	1.820
N NO ₃ disparu		2,29	1,60	1,20	0,30	0,60		
N NH ₃ apparu		0,14	0,34	0,36	1,90	4,10		
Teneur en eau pour 100 de substance sèche.								
	1.263	1.549	1.775	1.937	1.753	1.587	1.292	1.271
Surface jaunie/surface totale.								
			1/10	5/10	1	début de brunissement et mort		

TABLEAU IV B

*Limbes d'Oseille.***Intensités et Quotients respiratoires**1° I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par 10 Limbes et par heure.

1-2-3-4-5-6 : Limbes à l'obscurité, T = 18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-216 h.	A 0-48 h.	B 0-48 h.
CO ₂	1,361	1,391	1,358	2,580	3,387	1,740	1,303
O ₂	1,444	1,481	1,514	2,705	3,102	1,821	1,436
Q. R.	0,943	0,938	0,904	0,952	1,090	0,949	0,907
2° mg. de CO ₂ émis par 10 Limbes pendant 48 h. ou 24 h. (*)							
	128,34	131,17	128,06	243,29	159,70 (*)		

Les nombres représentent la moyenne de 3 mesures faites sur 3 lots prélevés simultanément.

TABLEAU IV C

*Limbes d'Oseille.***Variations des principales formes d'Azote, des Glucides et de l'Ion oxalique (en mg. pour 10 Limbes).**

1-2-3-4-5-6 : Limbes à l'obscurité, T = 18° C.

A-B : Limbes témoins, restés sur pied en pleine terre, à la lumière.

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 216 h.	A	B
N protéique	68,40	60,88	51,36	41,11	32,77	25,67	68,14	67,58
N organ. sol.	7,31	11,49	14,79	17,87	14,95	13,05	6,42	7,49
N tot. des Amides ..	2,06	2,40	4,32	4,74	1,81	1,68	2,07	2,68
N des Amino-acides ..	3,09	7,03	8,81	11,07	10,27	8,56	4,10	4,59
N polypept.	0,74	1,54	1,50	3,16	2,57	2,39	0,22	0,35
N organ. total	75,71	72,37	66,15	58,98	47,72	38,72	74,56	75,07
N (NH ₃)	7,97	8,75	15,62	20,87	25,37	22,73	7,47	8,99
N (NO ₃)	0,98	1,52	1,33	1,74	1,36	1,54	0,76	1,25
N total	84,66	82,64	83,10	81,59	74,45	62,99	82,79	85,31
Amidon et Hémicell.	52,45	18,18	10,30	5,89	4,88	5,51	37,96	41,93
Autres Gl. insolubles	28,26	11,99	9,97	8,98	5,47	4,99	33,47	26,14
Gl. sol. non réd.	17,36	7,89	6,71	5,93	1,67	2,90	21,33	21,15
Gl. sol. réd.	13,48	15,51	10,03	6,85	5,43	7,06	10,44	10,61
Gl. totaux	111,55	53,57	37,01	27,65	17,45	20,46	103,20	99,82
Ion oxal. sol.	68,38	58,14	35,06	23,56	34,13	19,46	63,32	55,15
Ion oxal. insol.	62,20	56,25	59,86	57,55	41,07	39,04	60,15	70,25
Ion oxal. total	130,58	114,39	94,92	81,11	75,20	58,50	123,47	125,40

TABLEAU IV D

*Limbes d'Oseille.***Gains ou pertes de l'Azote des Amides**

(en mg. pour 10 Limbes).

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-216 h.
N des Amides totales	+ 0,34	+ 1,92	+ 0,42	— 2,93	— 0,13
N des Amides dér. Ac. glut. et asp. (11,5 %)	+ 0,86	+ 1,09	+ 1,18	+ 0,96	+ 0,82
N des Amides dér. des Prot. (5 % × 2)	+ 0,75	+ 0,95	+ 1,03	+ 0,83	+ 0,71

TABLEAU IV E

*Limbes d'Oseille.***Variations des principaux groupes protidiques**

(en mg. pour 10 Limbes).

	1 0 h.	2 48 h.	3 96 h.	4 144 h.	5 192 h.	6 216 h.
Protéines + polypepti- des (N × 6,25)	432	390	330	277	221	175
Asparagine et Glutami- ne (N × 5)	10	12	22	24	9	8
Amino-acides (N × 8) .	25	56	70	89	82	68
Protides totaux	467	458	322	390	312	251

TABLEAU IV F

Limbes d'Oseille.

Bilan de Carbone
(en mg. pour 10 Limbes).

	1-2 0-48 h.	2-3 48-96 h.	3-4 96-144 h.	4-5 144-192 h.	5-6 192-216 h.
C Protéines + Polypeptides.....	— 21	— 30	— 27	— 28	— 23
C Amides	+ 1	+ 3	+ 1	— 6	0
C Amino-acides	+ 12	+ 6	+ 8	— 3	— 6
C d'origine protidique	— 8	— 21	— 18	— 37	— 29
C Glucides.....	— 25	— 7	— 4	— 4	+ 1
C Ac. oxalique ...	— 4	— 5	— 4	— 2	— 4
C perdu total calculé	— 37	— 33	— 26	— 43	— 32
C perdu mesuré (respiration)	— 35	— 36	— 35	— 66	— 43

Interprétation (Fig. IV a, IV b, IV c, Tableau IV E).

Le Bilan carboné, établi sur les mêmes bases que les précédents, est représenté dans le tableau IV E.

Il est presque aussi satisfaisant que celui qui concerne les limbes de Blé, et probablement pour les mêmes raisons d'homogénéité des lots.

Au cours de l'inanition glucidique à l'obscurité, les limbes adultes d'Oseille, maintenus sur liquide de Knop, absorbent de l'eau presque jusqu'au moment de leur mort.

Le cours des phénomènes respiratoires peut être décrit ainsi : (Fig. IV b et IV c) :

1° Pendant 48 h., les glucides fournissent la plus grande partie du Carbone émis par la respiration sous forme de CO₂. L'hydrolyse des protéines survient rapidement, et l'oxydation des principes azotés organiques solubles est commencée de sorte qu'un quart du Carbone perdu provient de cette source.

L'acide oxalique n'intervient pas dans les oxydations.

L'I. R. est plus faible que celle des limbes précédents ; le Q. R.

légèrement inférieur à 1, traduit l'oxydation simultanée des glucides et des protides.

La première partie de cette période seule correspond à la « floating phase » de GODWIN H. et à la phase glucidique de CHIBNALL A. C.

Celle-ci est plus courte que dans les cas précédents.

2° Après 48 h., l'hydrolyse des protéines se poursuit rapidement et le rapport des pertes glucidiques et protidiques est inversé. L' NH_3 libérée par désamination est neutralisée par les acides organiques. L'acide oxalique intervient peu dans les oxydations.

L'I. R. s'élève légèrement, en raison de l'afflux des métabolites solubles, mais le Q. R. diminue, traduisant la prépondérance de l'oxydation protidique.

Cette période appartient à la phase protoplasmique de GODWIN H., à la phase protéique de CHIBNALL A. C. Il n'est pas possible d'envisager une « climateric respiration », la conversion de NH_3 en amides étant nulle ou presque.

3° Après 96 h., le jaunissement s'étend rapidement, l'oxydation protidique fournit toujours la plus grande partie du Carbone perdu et l' NH_3 libérée est neutralisée par les acides organiques.

L'acide oxalique commence à prendre part aux oxydations. L'I. R. s'élève légèrement alors que le Q. R. se maintient à un niveau bas. L'élévation de l'I. R. aux dépens des substances azotées peut être mise en relation avec une action indirecte de l'acide oxalique, dont la diffusion dans le cytoplasme accélère les oxydations (MOYSE A., 1946 b).

Cette période correspond au début de la phase de sénescence de GODWIN H. et à la phase protéique de CHIBNALL A. C.

4° A partir de 144 h. et jusqu'à la mort, l'oxydation de l'acide oxalique provoque à la fois une élévation de l'I. R. et une élévation du Q. R.

Cependant, la protéolyse continue, ainsi que l'oxydation protidique qui fournit encore la plus grande partie du Carbone perdu.

L' NH_3 libérée est en partie neutralisée sur place, en partie évacuée vers les pétioles.

La part du Carbone d'origine oxalique dans les pertes respiratoires est très faible en comparaison de la part protidique, qui à elle seule est supérieure à ce qu'elle était dans la phase précédente.

On retrouve l'action de l'acide oxalique sur l'oxydation des autres métabolites.

Cette période, qui appartient toujours à la phase de sénescence et à la phase protéique, peut être également définie *phase acide*. Mais il s'agit d'une phase des acides organiques postérieure à la phase protéique proprement dite et non intercalée entre elle et la phase glucidique, ainsi que l'a présentée CHIBNALL A. C.

Elle correspond à la diffusion dans le protoplasme des liquides vacuolaires entraînant avec eux des substances aisément oxydables comme l'acide oxalique et qui, dans l'état physiologique normal, ne sont jamais massivement mises en contact avec les organites cellulaires. Après 192 h., le taux des oxydations continue à s'élever ainsi que le Q. R. La phase acide se poursuit sans discontinuité au-delà de la mort.

3. Discussion.

Examen comparé des variations des teneurs en eau, en glucides, en protides et en ion oxalique, en relation avec les échanges gazeux respiratoires.

1° *L'Eau*. PLANTEFOL L. (1927) a mis en évidence la relation qui existe entre l'imbibition des tissus et l'I. R. des Mousses reviviscentes. L'I. R. croît avec la teneur en eau de ces organismes tant que cette dernière est inférieure à 200 pour 100 de substance sèche. Lorsque la teneur en eau s'élève au-dessus de 200, l'I. R. reste constante ou décroît faiblement.

Dans les expériences présentes, les variations de teneur en eau des limbes sont importantes.

Au début du séjour à l'obscurité, l'absorption est générale et elle se maintient pendant 100 à 150 h. selon les espèces.

On sait, par les travaux de LIVINGSTON B. E. et BROWN W. H. (1912), que les feuilles de plantes mésophytes s'enrichissent en eau pendant la nuit et THODAY D. (1910) a montré que les feuilles détachées absorbent plus d'eau que les feuilles restées sur les plantes.

La fermeture des stomates, consécutive au détachement des organes (HUSEIN SAÏD et TOLBA M. K., 1948) et, en atmosphère voisine de la saturation en vapeur d'eau, l'absence de transpiration dont le minimum coïncide avec l'hydratation maximum des

tissus (KRAMER P. J., 1937), favorisent l'accroissement de la teneur en eau.

L'absorption de la vapeur saturante peut même avoir lieu (PLANTEFOL L., 1927).

Après 50 à 150 h., selon les espèces et en coïncidence avec le début de jaunissement, la teneur en eau se stabilise, les tissus ont atteint leur état de *réplétion* selon l'expression de VESQUE J. (1878).

Un peu plus tard, une évacuation survient et s'accélère lorsque le protoplasme se désorganise.

Ces variations sont semblables à celles que WEATHERLEY P. E. (1947) a décrites à propos de feuilles de Coton flottant sur l'eau. Il est vraisemblable que la teneur en eau des tissus est en relation directe avec les variations du pouvoir osmotique des liquides intracellulaires, ainsi que l'a signalé DENNY F. E. (1932).

Pendant la première période, qui correspond à l'absorption, l'hydrolyse des glucides et des protéines est très intense et la teneur en eau des tissus croît, alors que la quantité de substances imbibables diminue et que la teneur en substances solubles augmente.

Mais ces variations, qui n'affectent que des teneurs en eau très élevées, n'ont guère d'effet sur les échanges gazeux respiratoires (MAIGE A. et NICOLAS G., 1910, WOOD J. G. et PETRIE A. H. K., 1938, DOMIEN F., 1948).

L'eau peut cependant jouer un rôle indirect. MOTHES K. (1931) a montré que la déshydratation des feuilles favorisait la protéolyse. Il faut également observer qu'inversement, les fortes teneurs en eau sont défavorables à la formation des amides dans les feuilles (Tabac : VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S., 1933).

L'absorption des sels minéraux du milieu liquide est très faible, ainsi que l'indiquent les variations de l'ion nitrique du milieu de culture. PHILLIS E. et MASON T. G. (1945) ont observé le même fait avec des disques de feuilles de Coton flottant sur des solutions salines à l'obscurité. La réduction des nitrates, qui peut être accompagnée d'une émission d' O_2 par les plantes vertes (MOLLIARD M., 1916, 1923) ou d'une augmentation du Q. R. (RUHLAND W. et ULLRICH H., 1929), est ici faible ou nulle.

La perte de substance de la part des limbes n'est très sensible qu'en fin d'expérience, alors que l' NH_3 diffuse dans le milieu

liquide. Cette perte est à rapprocher de l'excrétion de NH_3 par les racines de plantes ou de plantules carencées en glucides (PRIANISCHNIKOV D. et IVANOVA V., 1929, ARENZ B., 1941 a, b et c).

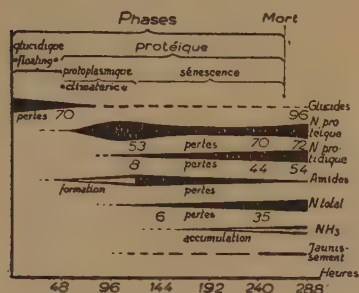


Fig. Ia: BLÉ

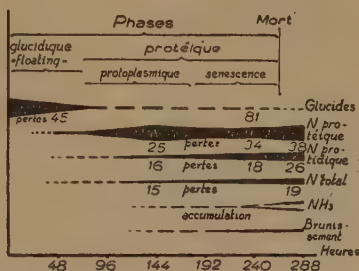


Fig. IIIa: SARRASIN

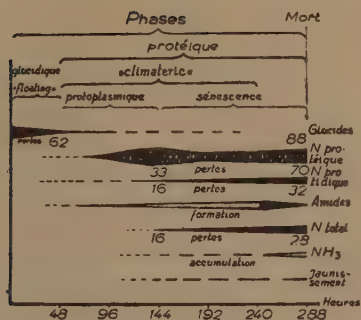


Fig. IIa: HARICOT D'ESPAGNE

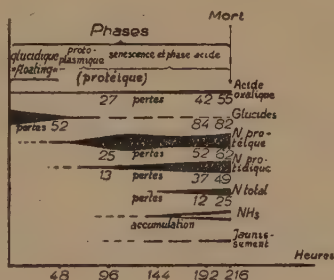


Fig. IVa: OSEILLE

VARIATIONS PROTIDIQUES ET GLUCIDIQUES

Les nombres indiquent les pertes pour 100 de la teneur initiale de chaque forme

2° Les Glucides. Les variations de la teneur en glucides sont parmi les facteurs les plus importants. Les migrations nocturnes des glucides des feuilles attachées aux tiges sont suivies d'une diminution de l'I. R. (MEYER A. et DELEANO N. T., 1911, 1913, confirmé par ARNEY S. E., 1947).

La chute de la teneur en glucides est très rapide dans les quatre séries de limbes, elle atteint toujours au moins 50 % de la teneur initiale en 48 heures. L'hydrolyse de l'amidon et des holosides est comparable à celle qui survient la nuit dans les feuilles et qui fut

si souvent décrite (voir MILLER E. C., 1924, ARNEY S. E., 1947), mais elle est rapidement totale avec la prolongation du séjour à l'obscurité.

Ainsi que l'indique le Tableau 3, l'I. R., pendant la 1^{re} période, est en relation directe avec la teneur en glucides des limbes des différentes espèces et non avec leur teneur en protéines (cf. POPOV K. J., 1944-1945).

On verra plus loin qu'une relation avec la teneur en protéines apparaît nettement dès que la teneur en glucides est faible, mais il s'agit alors d'une « respiration de famine ».

TABLEAU 3

	I. R. cm ³ de CO ₂ % P. S. par h.	Glucides totaux % P. S.	N protéique % P. S.
Haricot d'Espagne ..	1,889	10,16	3,53
Sarrasin	1,110	8,96	4,13
Blé	0,815	5,45	3,15
Oseille	0,763	6,05	3,70

C'est l'afflux de glucides simples, faciles à oxyder, qui maintient l'I. R. élevée et le Q. R. très voisin de l'unité.

Cette « floating phase » apparaît dans sa totalité homogène dominée par la dégradation des métabolites respiratoires les plus communs. Leur rôle dit d'« épargne » vis-à-vis des protides n'est sans doute que la conséquence de leur oxydation préférentielle.

3^o *Les Protides.* La protéolyse débute dès le commencement du séjour à l'obscurité et, selon la richesse des cellules en glucides, l'oxydation des amino-acides survient plus ou moins rapidement à sa suite.

Mais les oxydations prennent un rythme nouveau, car si la masse de substances oxydables d'origine protidique peut être beaucoup plus considérable que la masse glucidique (voir les Tableaux I C et I E pour le Blé, II C et II E pour le Haricot d'Espagne, III C et III E pour le Sarrasin, IV C et IV E pour l'Oseille), les protides simples sont, *in vivo*, moins aisément oxydés que les glucides. Ce n'est que lorsque la protéolyse est extrêmement forte (cas du Blé) que l'I. R. parvient à se maintenir aussi élevée qu'au début. Alors se manifeste l'influence des protides solubles

sur la respiration, signalée par SPOEHR H. A. et MAC GEE J. M. (1923), WOOD J. G. (1942), dans les feuilles et par BROWN R. (1946) dans les plantules. La phase protéique, protoplasmique dans sa première partie, est caractérisée généralement par une I. R. plus basse et un Q. R. également moins élevé.

Mais, selon les espèces, la réaction protoplasmique est différente (MORSE A., 1947).

a) Les limbes de Blé et de Haricot d'Espagne s'enrichissent au moins temporairement en amides ; l' NH_3 provenant de la désamination des amino-acides oxydés est « neutralisée » sous cette forme. Il en résulte une accentuation de la diminution du Q. R., par suite de l'immobilisation d' O_2 due à cette réaction. La « climateric phase » est caractérisée par ce phénomène beaucoup plus que par l'augmentation de l'I. R. que l'on ne constate que dans le cas du Blé et des autres Graminées.

Cette neutralisation présente des caractères différents pour le Blé et le Haricot d'Espagne :

Blé : la glutamine, instable, est rapidement détruite. L'asparagine formée en petite quantité est entraînée plus tard dans le flux des oxydations. Il en résulte une libération d' NH_3 et une perte d'N protidique précoces.

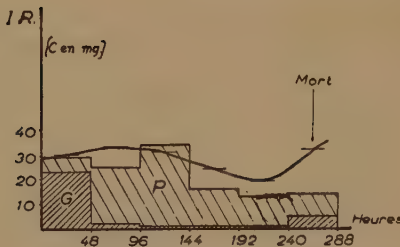
Haricot d'Espagne : l'asparagine formée plus abondamment assure une « neutralisation » plus efficace et la perte d'N protidique est plus tardive.

b) Les limbes de Sarrasin et d'Oseille ne forment pas d'amide stable en supplément, NH_3 est « neutralisée » directement sous forme de sel (plantes du type « ammonium »).

Pendant les premiers temps de cette phase protéique, il est vraisemblable qu'une partie au moins des protéines des chloroplastes est lysée (cf. ULLRICH H., 1924). Dans les complexes « protéines-chlorophylle », homogènes pour chaque espèce (MOYER L. S. et FISHMAN M. M., 1943), les deux termes se dégradent simultanément, ainsi qu'en témoignent l'affaiblissement graduel de la teinte verte des limbes et la protéolyse.

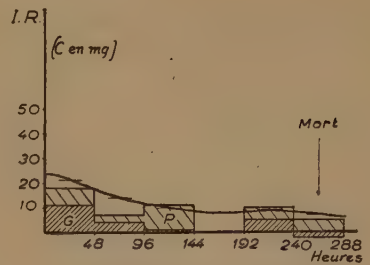
Le lien entre les deux dégradations a été constaté il y a longtemps par MEYER A. (1918) et confirmé par MICHAEL G. (1935).

Ce n'est que lorsque les chloroplastes ont perdu leur structure que la teinte jaune apparaît, manifestant l'oxydation des pigments



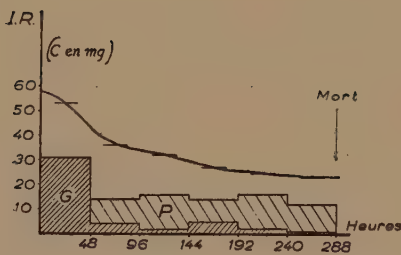
BLÉ (20 Limbes)

FIG I b



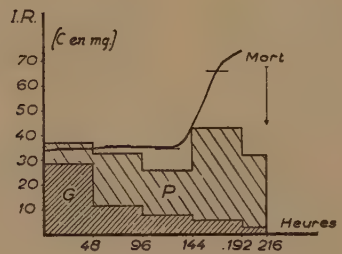
SARRASIN (10 Limbes)

FIG III b



HARICOT D'ESPAGNE (10 Limbes)

FIG II b



OSEILLE (10 Limbes)

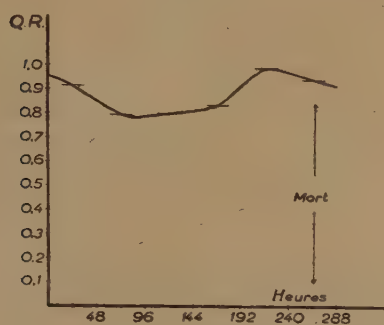
FIG IV b

INTENSITÉS RESPIRATOIRES

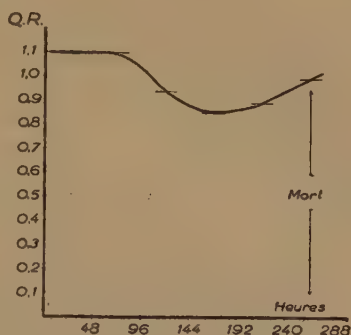
C en mg : Carbone en mg G : Carbone glucidique P : Carbone protéidique. \ perte de C (CO₂ mesuré)

caroténoïdes, en particulier de la xanthophylle (STRAIN H., 1938). Des protéines du cytoplasme et du noyau cellulaire restent encore intactes, alors que celles des chloroplastes ont disparu en même temps que la chlorophylle. A leurs dépens, la protéolyse continue, mais sur un rythme plus lent généralement. Dans les feuilles de Haricot d'Espagne seules, la protéolyse se maintient constante pendant toute la durée de l'expérience. Au cours de cette phase de sénescence, l'oxydation atteint activement les protéines, l'I. R. est basse dans la mesure où n'interviennent pratiquement pas d'autres métabolites ; le Q. R. peut éventuellement s'élever si l'oxydation des amides est intense, fait qui ne se produit qu'en l'absence presque complète de glucides (Blé). PRIANISCHNIKOV D.

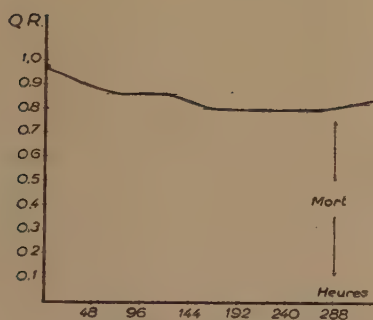
a déjà signalé que la stabilité des amides dans les organes végétaux est liée à la présence de glucides (1922).



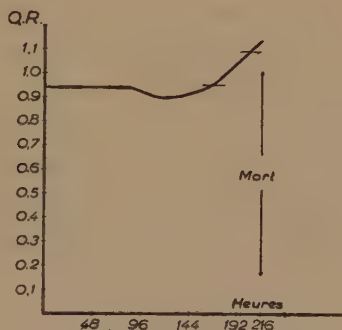
BLÉ
Fig I c



SARRASIN
Fig III c



HARICOT D'ESPAGNE
Fig II c



OSEILLE
Fig IV c

QUOTIENTS RESPIRATOIRES

4° *L'Ion oxalique*. L'acide oxalique ne joue un rôle important que dans les limbes d'Oseille. Son influence est double. Comme métabolite, il participe aux oxydations respiratoires et provoque une élévation du Q. R. en relation avec son Quotient de combustion élevé. Mais, de plus, il provoque une accélération des oxydations des autres métabolites, lorsque le début de désorganisation du cytoplasme, accompagné d'une augmentation de la perméabilité, facilite son contact avec le contenu protoplasmique (MOYSE A., 1947 c). L'acide libre semble être seul actif, les oxalates sont

beaucoup moins facilement oxydés que lui au contact des tissus vivants (cf. HOUGET J., MAYER A. et PLANTEFOL L., 1927).

5° *L'Intensité respiratoire et les Protéines.*

Si l'on exprime l'I. R. par rapport à la teneur en protéines totales (Tableau 4), on voit également que l'I. R. élevée est fonction de l'afflux des métabolites solubles, quelle que soit leur origine :

glucidique (Haricot 0-48 h., Sarrasin 0-48 h.).

protidique (Blé 48-240 h.).

protidique et oxalique (Oseille 96-192 h.).

TABLEAU 4

I. R. : mg. de CO₂ émis pendant 48 h. par mg. de N protéique moyen.

Limbes de	0-48 h.	48-96 h.	96-144 h.	144-192 h.	192-240 h.
Blé	2,81	4,40	5,85	6,02	5,51
Haricot d'Espagne..	5,07	3,84	4,02	4,07	4,75
Sarrasin	2,63	1,89	1,49	1,29	1,48
Oseille	1,99	2,34	2,77	6,58	

La comparaison entre les I. R. des limbes des différentes espèces, ainsi exprimées, montre qu'il n'y a pas au début de proportionnalité entre elles et les teneurs en protéines totales. HEE A. (1930) l'a déjà signalé à propos de résultats d'analyses des échanges gazeux de feuilles d'espèces variées pendant des temps courts.

Mais la comparaison de l'I. R., pour chaque espèce de limbes, après 96 heures, révèle une proportionnalité satisfaisante (exception faite pour l'Oseille).

Dans le cas du Blé seulement, l'I. R. ainsi exprimée croît légèrement avec la déficience en N. Ceci confirme les résultats obtenus par PETRIE A. H. K. et WILLIAMS R. F. (1938) : l'I. R. des feuilles d'Herbe du Soudan et d'Avoine, toujours exprimée par rapport à la teneur en protéines, est d'autant plus grande que les feuilles sont plus carencées en N. Mais ce fait ne paraît pas pouvoir être généralisé aux feuilles des autres espèces. Il s'explique en raison

des caractères différents des protéines cellulaires pour un même tissu. SMIRNOW A. J. et IZWOSCHIKOW W. P. (1930) ont montré que, pendant la période de survie des feuilles de Tabac « traitées », toutes les protéines n'étaient pas équivalentes au point de vue des phénomènes de dégradation. Une fraction serait stable ou entrerait difficilement dans le flux métabolique. Les expériences sur les feuilles détachées, en inanition, confirment que toutes les protéines ne sont pas hydrolysées aussi facilement les unes que les autres (1). Dans ces feuilles adultes, l'accumulation de protéines paraplasmaïques ou protoplasmaïques n'est pas en cause. Mais une différence de stabilité se manifeste entre les protéines des chloroplastes et celles du cytoplasme et du noyau.

Après 96 heures, dans chaque série de limbes, il n'existe plus ou presque plus de protéines chloroplastiques. Seules, les protéines du cytoplasme et du noyau subsistent.

C'est dans ces dernières, véritable substrat catalytique des oxydations cellulaires, qu'il faut rechercher le lien de proportionnalité entre l'I. R. et la teneur en N fondamental, ainsi que l'a montré PALLADINE W. (1896), au cours de ses essais de séparation des protéines banales et des nucléoprotéines, et plus récemment WOOD J. G. (1941), qui a mis en évidence la corrélation linéaire entre l'I. R. et la teneur en N cytoplasmique et nucléaire des feuilles de l'Herbe du Soudan.

(1) L'augmentation de la teneur globale en amino-acides dans les cellules n'entrave pas la protéolyse, pas plus d'ailleurs qu'elle ne règle la vitesse de la protéogenèse et l'on ne peut envisager à l'égard des deux termes : N protéique et N organique soluble, l'existence d'un équilibre régi par la loi d'action de masse, ni même l'existence d'un seuil de condensation comme on le fait à propos de la genèse de l'amidon à partir du glucose (Cf. PETRIE A. H. K. et WOOD J. G., 1938 *a* et *b*). WOOD J. G. et BARRIEN B. S. (1939) ont montré que dans les feuilles prélevées sur des pieds entiers de *Lolium multiflorum* et de *Lolium subulatum* en inanition glucidique à l'obscurité, le Soufre organique était très rapidement oxydé. Les amino-acides sulfurés du type cystine disparaissent plus rapidement que les autres, et cette disparition provoquerait le déséquilibre dans les rapports quantitatifs que doivent présenter entre eux les divers amino-acides provenant directement de la protéolyse et qui pourraient assurer une reprise de la protéosynthèse.

Les protéines chloroplastiques renfermant environ 70 % du Soufre protéique total des cellules (HANSON E. A., BARRIEN B. S. et WOOD J. G., 1941), l'oxydation rapide des amino-acides sulfurés expliquerait la poursuite totale de la destruction de ces protéines.

6° *Survie des feuilles à l'obscurité, jaunissement automnal et étiolement.*

La comparaison des phénomènes qui caractérisent la survie des limbes foliaires en inanition glucidique à ceux qui accompagnent le jaunissement automnal des feuilles permet de souligner les différences suivantes.

« L'étude de la marche du jaunissement, écrit COMBES R. (1931), nous a amenés à constater que les pertes de substances azotées éprouvées par les feuilles sont très faibles ou même nulles pendant tout le temps où ces organes conservent la plus grande partie de leur chlorophylle. Lorsque la teinte verte commence à s'atténuer, mais avant qu'apparaissent les premières plages jaunes, les pertes demeurent encore faibles ou nulles. Au cours de cette période, s'il y a transport de substances organiques azotées des feuilles vers les organes vivaces, il se produit en même temps un mouvement de matériaux azotés en sens inverse — composés azotés venant du sol — qui maintient à peu près constant le contenu azoté des feuilles ; ce mouvement est d'ailleurs de très faible intensité si l'on en juge par le faible enrichissement en Azote organique qui se produit chez un jeune Hêtre au cours d'une année de végétation. A ce transport très lent, et plus ou moins continu au cours de la période active de végétation, qui mène dans la tige et la racine une partie des composés organiques azotés élaborés dans les feuilles, on peut réserver le nom d'*émigration*. Jusqu'à l'apparition des premières taches jaunes sur les feuilles, c'est donc seulement le phénomène d'émigration des substances azotées qui se produit dans les plantes ligneuses. Mais, quand le jaunissement est nettement commencé, se déclanche brusquement un départ des substances azotées des feuilles qui porte sur une quantité considérable de matière..., c'est une véritable *évacuation* de certains des constituants des feuilles ». L'N évacué provient à la fois du cytoplasme et des chloroplastes (ECHEVIN R., 1931). De plus, la photosynthèse ne s'atténue que progressivement, l'I. R. s'accroît jusqu'à la perte totale du pigment vert et ne diminue qu'ensuite (COMBES R. et KOHLER D., 1922 a).

Les limbes jaunissants sur liquide à l'obscurité ne présentent pas de telles migrations, qui ne se produisent même sur rameaux détachés que lorsque ceux-ci ont une taille importante (COMBES R., 1926). Les seules migrations que l'on observe consistent dans

le déplacement des substances solubles du sommet vers la base des limbes ou vers le pétiole, analogues à celles que PALMQUIST E. M. (1938) a constaté *in situ* dans le phloème des nervures des folioles du Haricot. Presque tous les métabolites s'oxydent sur place et beaucoup plus rapidement dans des limbes d'herbacées que dans ceux d'espèces ligneuses. L'évacuation finale entraîne surtout de l' NH_3 , et elle est beaucoup moins importante au moment de la mort que dans les feuilles attachées.

Seule, la décroissance de l'I. R., pendant la phase de jaunissement proprement dit, est commune (en l'absence de corps comme l'acide oxalique), et en relation avec l'abaissement de la teneur en métabolites et l'amointrissement de la masse protoplasmique.

Avec les plantules étiolées étudiées par PALLADINE W. (1893), la similitude se retrouve dans la faible teneur en glucides accompagnée d'une I. R. plus faible et d'un Q. R. plus bas que dans les plantules normales.



CHAPITRE III

Le métabolisme azoté, les glucides et les échanges gazeux respiratoires des limbes carencés ou non carencés en Azote

A. Généralités

Puisque, dans les feuilles détachées maintenues à l'obscurité, les liens entre l'oxydation des glucides, la protéolyse, l'oxydation des amino-acides, la formation des amides et la respiration apparaissent avec netteté, peut-on espérer de même mettre en évidence l'existence et la nature de ces liens, lorsque les feuilles sont laissées à la lumière ?

Fort peu de travaux ont été tentés dans cette voie, probablement en raison des faibles variations matérielles subies par les feuilles détachées maintenues à la lumière, naturellement plus ou moins riches en glucides, et du peu d'aptitude de ces feuilles à réaliser les synthèses protidiques.

La plupart des recherches dont l'analyse servira d'introduction à cette seconde série d'expériences ne concernent que le métabolisme azoté des feuilles détachées.

1. Le métabolisme azoté des feuilles détachées riches en glucides.

L'exposition à la lumière paraît être le moyen le plus simple d'enrichir les feuilles vertes en glucides. La lumière est considérée par ailleurs comme un facteur favorable à la protéogenèse. Son action dépend pour une très large part de la photosynthèse qui assure l'apport carboné nécessaire à la protéogenèse, bien qu'elle ne puisse entièrement se réduire à cet unique effet glucidique. On estime il est vrai, depuis les recherches de ZALESKI W. (1897), sur le métabolisme azoté des feuilles de *Helianthus annuus*, que les feuilles peuvent former des protéines même à l'obscurité et que la

protéogénèse exige seulement la présence de quantités élevées de glucides solubles. La conséquence de l'illumination peut toutefois se traduire simplement par le maintien de l'équilibre protéique des feuilles. C'est ce que constata BORODIN I. (1878) qui, ne trouvant pas d'asparagine dans les feuilles vertes des Légumineuses n'ayant pas préalablement séjourné à l'obscurité, considéra que ce corps, témoin d'une dégradation protéique, ne pouvait s'accumuler que lorsque les processus de synthèse se trouvaient interrompus.

Mais plus tard, CHIBNALL A. C. (1924 *b*) constata l'existence d'une protéolyse dans les feuilles de *Phaseolus multiflorus* détachées, exposées à la lumière du jour, et il y mit en évidence l'asparagine. Il conclut que la lumière a peu d'influence sur la protéolyse. Son action se traduit simplement par une formation d'asparagine moins abondante qu'à l'obscurité.

MOTHES K. (1925, 1926) retrouva l'amide dans les feuilles de *Phaseolus multiflorus* et de *Vicia faba* maintenues à la lumière diffuse ou normale. Sous un éclairage intense, l'asparagine tend par contre à disparaître.

Il étudia de plus l'action sur la synthèse protidique de différents aliments azotés minéraux ou organiques et l'action de l'Oxygène.

D'après lui, la nutrition ammoniacale peut être suivie d'une synthèse protidique, le glucose présent dans les cellules assurant la prédominance des synthèses et entravant la formation d'amides. (La culture sur solution nutritive glucosée ralentit la protéolyse dans les plantes jeunes, à l'obscurité).

Il souligna le lien qui existe entre la formation d'amides et « une respiration des protides », en anesthésiant des feuilles par le chloroforme. La protéolyse (toute synthèse étant suspendue) n'aboutit qu'à la formation d'acides aminés et le retour en atmosphère normale, non chloroformée, est suivi d'une forte conversion en amides.

BJÖRKSTEN J. (1930) « infiltra » sous vide des feuilles détachées de Blé avec des solutions azotées très diverses : sels ammoniacaux d'acides organiques, acides aminés, amines, nitrates, sels ammoniacaux d'acides minéraux, et constata que les corps organiques étaient plus favorables à la protéogénèse que les sels minéraux, pendant des durées très courtes (6 heures).

Plus tard, MOTHES K. (1931) « infiltra » des liquides nutritifs sous vide dans les feuilles de *Nicotiana glauca*, *N. atropurpurea*,

N. tabacum et de *Phaseolus multiflorus* jeunes ou âgées, plus ou moins appauvries en glucides par un séjour à l'obscurité.

Admettant avec BJÖRKSTEN qu'un sel organique d'Ammonium est plus efficace qu'un sel minéral pour la nutrition azotée foliaire, il nourrit ses feuilles de succinate, fumarate, malate, aspartate, pyruvate, lactate, tartrate, acétate.

L'infiltration de molécules tétracarbonées, surtout de malate, est suivie d'une formation abondante d'amides; il en est de même d'ailleurs avec les autres sels, sauf l'acétate.

Mais, et même en présence de malate d'Ammonium, les feuilles pauvres en glucides ne s'enrichissent pas en amino-acides et en protéines.

Seule la formation d'amides est possible et elle semble d'autant plus aisée que le chaînon carboné alimentaire est proche du chaînon amidé. Les acides tétracarbonés seraient les plus favorables à la synthèse de l'asparagine.

SCHWAB G. (1936) a repris une étude semblable à celle de MOTHES en « infiltrant » par centrifugation des solutions très diluées de sulfate, carbonate acide, acétate, oxalate, malate, aspartate, glutamate d'Ammonium, dans des feuilles de *Phaseolus multiflorus*, *Fittonia Verschaffeltii*, *Lappa tomentosa*, appauvries en glucides et dans des plantules étiolées de Blé.

Il ne retrouve pas cette coopération préférentielle des diacides tétracarbonés (ou pentacarbonés) à la formation d'amides. D'après ses résultats, la synthèse d'asparagine ou de glutamine ne semble dépendre que des teneurs en NH_3 et en glucides.

MOTHES obtint en 1933 (a et b) une synthèse protéique dans les feuilles de *Zea Mays*, *Triticum sativum*, *Phaseolus multiflorus* et *Nicotiana glauca* « infiltrées » à la lumière de solutions glucosées de sulfate, nitrate, lactate d'Ammonium et d'urée. Le nitrate et le lactate provoquent un net accroissement de la teneur en protéines. Des mélanges d'amino-acides (hydrolysats de protéines) sont encore plus efficaces, surtout s'il s'agit des hydrolysats obtenus à partir des organes d'accumulation de la même espèce.

La protéogénèse est plus intense si les feuilles sont prélevées sur des organismes en « faim d'azote ».

Les faibles tensions d' O_2 (1 %) ou les fortes (100 %) dans l'atmosphère n'influent en rien sur la production d'amides par les feuilles de *Nicotina* infiltrées de malate ou de fumarate d'Ammo-

nium, lorsqu'elles sont pauvres en glucides (1933 *a*). Avec des feuilles riches en glucides (1933 *b*), MOTHES K. obtient une protéogenèse beaucoup plus intense en atmosphère d'O₂ pur à la lumière. La tension normale voisine de 20 % lui apparaît, pour des durées d'expérience de 48 heures à l'obscurité, tout juste suffisante pour que le taux des protéines se maintienne.

Pour essayer de séparer les processus de lyse et de synthèse qu'il estime simultanés et dont les analyses ne traduisent que le bilan d'ensemble, MOTHES utilise la narcose par le chloroforme, afin de suspendre toute synthèse.

L'atmosphère d'O₂ pur, dans ces conditions, entrave quelque peu la protéolyse. Il en conclut que les fortes tensions d'O₂ retardent toujours la protéolyse alors qu'elles sont favorables à la protéogenèse. Les faibles tensions, à l'inverse, faciliteraient la protéolyse et seraient défavorables à la protéogenèse.

La lumière faciliterait la protéogenèse non seulement par l'enrichissement glucidique de photosynthèse, mais de plus parce que cette dernière s'accompagne d'une émission d'O₂ au niveau du protoplasme.

L'obscurité favoriserait la dégradation des protéines parce qu'elle entraîne, entre autres modifications, une diminution de la tension d'O₂ à la suite de l'interruption de la photosynthèse et de la fermeture des stomates.

(Il ne faut pas oublier cependant que l'O₂ est nécessaire à la formation des amides).

En 1932, SCHULZE T. avait montré que l'activité diastasique des ferments protéolytiques (protéases du type de la papaïne) varie avec l'âge des feuilles qui les renferment. Les jeunes feuilles de divers *Nicotiana* en particulier, sont plus riches en enzymes que les feuilles âgées qui, par contre, possèdent les plus actives.

MOTHES, ainsi que SCHULZE, interprète l'action inhibitrice de l'O₂ sur la protéolyse comme le résultat d'une inactivation des ferments, due à l'oxydation d'un « activateur », renfermant, selon toute vraisemblance, le groupe d'atomes SH, caractéristique de la cystéine, du glutathion. Il se réfère ainsi à l'opinion de PAL-LADINE W. qui considérerait les ferments protéolytiques comme « anaérobies ».

Si MOTHES eut l'incontestable mérite de tenter une étude d'ensemble de la régulation de la protéolyse et de la protéogenèse, ses travaux sont très critiquables.

La méthode « d'infiltration » provoque la sortie des gaz des méats cellulaires et les remplace par des liquides, modifiant les conditions de circulation des gaz et d'aération des tissus.

Il utilise fréquemment la « méthode des demi-feuilles » et pratique au besoin des incisions dans les organes, afin de faciliter l'entrée des liquides infiltrés, sans souci de l'importance des lésions réalisées. La narcose ne fait pas qu'inhiber les synthèses, elle provoque une augmentation de la perméabilité cytoplasmique. Par contre, elle bloque la circulation vasculaire normale (CRAFTS A. S., 1939).

De plus, PAECH K. qui reprit cette étude (1934, 1935) sur un grand nombre de feuilles parmi lesquelles celles de *Phaseolus multiflorus*, *Lupinus albus*, *Robinia Pseudacacia*, *Acer Negundo*, *Sambucus nigra*, *Syringa vulgaris*, montra qu'en anaérobiose, les cellules foliaires meurent rapidement. Avant la mort, la protéolyse est très faible et celle que MOTHES K. a observée, si importante, pourrait bien n'avoir eu lieu qu'après la mort.

L'inactivation des protéases par l'O₂ ne se produirait pas *in vivo* d'après PAECH, elle n'interviendrait qu'après la destruction de la structure protoplasmique.

Infiltrant des solutions glucosées dans les feuilles de *Phaseolus multiflorus*, *Brassica Napus*, *Helianthus annuus*, *Lupinus luteus*, maintenues à l'obscurité, il constate un ralentissement de la protéolyse, parfois même une prédominance de la protéogenèse, et en conclut que la synthèse protéique est proportionnelle à la teneur des tissus en « Azote actif » (NH₃ principalement) et à la teneur en monoses.

L'équilibre entre les teneurs en protéines, NH₃ et glucose, serait, d'après lui, directement exprimé par la loi d'action de masse, les autres facteurs alimentaires tels que les teneurs en éléments minéraux (P, S, K., etc...) se trouvant à leur optimum. La loi d'action de masse s'appliquerait à la formation ou à la dégradation des protéines en présence de glucose et de NH₃ entre deux limites : une limite inférieure, correspondant à la teneur minimum en protéines nécessaire au maintien de l'intégrité protoplasmique, et une limite supérieure correspondant au maximum de capacité des cellules d'accumuler des protéines.

D'après PAECH, une telle relation simple serait valable aussi bien pour chaque organisme que pour chaque organe, l'équilibre étant partout et toujours maintenu grâce aux courants de migration

« dont la vitesse et la direction seraient déterminées par les forces exercées par les points en croissance ».

La constance approximative de la valeur du rapport de la teneur en N protéique à celle en N total, réalisée au cours du cycle de la végétation dans les feuilles de Tabac et d'*Helianthus annuus* (SMIRNOW A. I., 1928), retrouvée dans les feuilles d'*Helianthus annuus* par GOUVENTAK C. A. (1931) s'expliquerait ainsi.

Mais cette constance n'est pas toujours réalisée, en particulier dans les feuilles des plantes vivaces, COMBES R. (1927), COMBES R. et PINEY M. (1929 *a* et *b*) ont observé des variations saisonnières importantes du rapport N protéique/N soluble, dans les différents organes du Hêtre, la protéolyse dominant dans les tiges et les racines aux mois de février-mars alors que la protéogenèse est intense dans les bourgeons et les jeunes feuilles. Cette dernière l'emporte dans tous les organes en avril et en juin ; enfin, en automne, la protéolyse est dominante dans les feuilles alors que la protéogenèse est active dans les tiges et les racines. Dans une plante annuelle même, comme l'Orge, ce rapport diminue légèrement avec l'âge (WALKLEY J. et PETRIE A. H. K., 1941).

S'il existe une relation entre les teneurs en glucides, en NH_3 et en protéines, elle ne peut s'exprimer aussi schématiquement.

PAECH a négligé complètement l'effet possible, direct ou indirect, de la teneur en eau des organes (MOTHES cependant en 1931, avait reconnu qu'un déficit en eau des feuilles attachées à la plante, s'accompagnait d'une augmentation de la dégradation protéique et de la migration des produits azotés solubles), de l'état de développement (les jeunes feuilles sont moins sensibles que les feuilles âgées aux agents favorables à la protéolyse), de l'illumination ou de l'obscurité qui ne retentissent pas uniquement sur le métabolisme protéique par la voie glucidique.

PAECH qui précise l'importance de la teneur en glucides des organes d'une façon aussi schématique, aussi mathématique, ne communique, paradoxalement, aucun résultat d'analyse glucidique. Cette critique qui lui a déjà été faite par CHIBNALL A. C. (1939) et que l'on peut étendre très généralement aux travaux de MOTHES apparaîtra fondamentale par la suite.

Tous les travaux récents effectués sur des feuilles laissées attachées aux plantes, en particulier ceux de GREGORY F. G. et SEN

P. K. (1937), et ceux de Wood J. G. (1942) infirment une vue aussi simple.

Parallèlement à leur étude du métabolisme des feuilles détachées abandonnées à l'obscurité sur milieu liquide, VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. ont suivi les variations des formes azotées, des glucides et des acides organiques, présentées par les feuilles de Tabac maintenues sur mêmes milieux (eau, solution minérale azotée, glucose à 0,36 %), mais à la lumière continue (1937).

Ils ont également fait une étude comparative du métabolisme azoté, glucidique et acide des feuilles de Rhubarbe cultivées à l'obscurité sur l'eau ou une solution de glucose à 5,4 % et à la lumière continue sur l'eau (1939 b).

Leurs expériences durent pendant les 200 ou 250 heures succédant au prélèvement.

Ils ont constaté qu'en lumière continue, les variations de la teneur en eau des organes sont généralement plus faibles qu'à l'obscurité. Dans ces conditions, le poids de substance sèche et le poids de substance solide organique s'élèvent en fin d'expérience, traduisant une activité photosynthétique intense. Cependant et dans *tous les cas*, si la teneur en Azote total des feuilles (limbes et pétioles compris) reste à peu près constante, la teneur en N protéique diminue alors que la teneur en N soluble augmente. L'N soluble est surtout représenté par les amino-acides. L'asparagine (Tabac) et la glutamine (Rhubarbe) se forment moins abondamment à la lumière qu'à l'obscurité. La protéolyse ne semble être retardée qu'en présence de lumière. A l'obscurité, ni la présence de glucose, ni celle de sels ammoniacaux ne paraissent l'entraver d'une manière significative. (Ces derniers semblent cependant déterminer un léger ralentissement de la lyse protéique). Les teneurs en acides organiques totaux, en acides malique, citrique et oxalique varient fort peu à la lumière.

Les migrations de substances solubles azotées des limbes vers les pétioles ne sont pas ralenties par l'illumination, qui les accélérerait plutôt. Les migrations dans le même sens des glucides solubles sont également importantes, sauf lorsque les feuilles sont maintenues sur milieu glucosé.

Si le manque d'homogénéité des organes utilisés (il en est d'âge différent dans chaque série) ne permet pas de mettre en évidence

une action nette de l' NH_3 sur la stabilité protéique dans les feuilles détachées, il apparaît, par ailleurs, n'exister aucun lien direct entre la teneur des tissus en glucides solubles et l'intensité de la protéolyse.

Par contre, l'illumination ou l'apport glucidique semblent réduire l'oxydation des protides et la formation des amides.

Enfin, l'action du glucose absorbé à l'obscurité par les feuilles n'est pas superposable à l'action de la lumière qui, seule, freine la protéolyse (1).

VIETS F. G. jr., WHITEHEAD E. I. et MOXON A. L. (1947), au cours d'une étude comparative du métabolisme azoté et glucidique des feuilles de Maïs détachées, à la lumière et à l'obscurité, constatent les mêmes phénomènes.

PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1938) ont étudié l'effet des diverses concentrations en glucose et en nitrate d'Ammonium sur l'équilibre protéique de fragments transversaux plus ou moins âgés des mêmes feuilles de Narcisse maintenues à l'obscurité. A des concentrations de 3 % de glucose et de 0,15 % de $\text{NO}_3 \text{NH}_4$, ils obtiennent une protéogenèse incontestable dans les segments basilaires. Les concentrations plus faibles en glucose sont insuffisantes à l'assurer et la protéolyse l'emporte; aux concentrations plus fortes la protéogenèse diminue d'intensité et les tissus les plus âgés deviennent flasques.

La synthèse protéique ne se manifeste que dans les segments foliaires les plus jeunes, dans lesquels vraisemblablement les mitoses sont encore abondantes et la chlorophylle non formée. Dans les segments plus âgés, verts, la protéolyse est toujours plus importante.

L'âge paraît jouer un grand rôle. Ils retrouvent les mêmes diffé-

(1) De même, il est probable que l'action de la lumière se manifeste d'une façon sensible dans les phénomènes respiratoires liés au métabolisme glucidique ou protéique. PARIJA F. et SARAN A. B. (1934) ont constaté une stimulation des oxydations respiratoires des feuilles d'*Aralia* par l'illumination brève, surtout après les 100 premières heures de séjour à l'obscurité, alors que ces feuilles sont inaptes à effectuer la photosynthèse. AUDUS L. J. (1947), expérimentant avec des rameaux feuillés de Laurier-cerise au cours des différentes phases du métabolisme à l'obscurité, constate également une stimulation des oxydations respiratoires par l'illumination, indépendante de l'effet photosynthétique glucidique. Une action spécifique sur les oxydations ne peut donc être écartée.

rences entre les segments d'âges différents de feuilles de *Pelargonium zonale*, *Tropaeolum majus*, *Vicia Faba*, *Coleus sp.*, *Helianthus perennis*, *Ligustrum vulgare*, *Iris pseudo-Acorus*.

Que les feuilles appartiennent à des Monocotylédones ou à des Dicotylédones, à des espèces annuelles ou vivaces, la protéogenèse ne se réalise que dans les segments les plus jeunes.

Cependant les divers fragments de feuilles de *Coleus sp.* prélevés au moment de la floraison, alors que leur croissance est terminée et que leur teneur en protéines est très faible, se sont révélés aptes à effectuer une protéogenèse sensible, tandis que les fragments supérieurs de feuilles de Narcisse, à ce stade, ont perdu cette faculté.

Cette influence de l'âge sur les potentialités de synthèse protéique des segments foliaires est à rapprocher de la perte totale de la faculté de protéogenèse des feuilles attachées aux tiges, lorsqu'elles parviennent à un âge adulte avancé (MOTHES K., 1931). Plus récemment WALKLEY J. (1940), analysant les 4^e feuilles de l'Orge du Cap, a constaté que si la synthèse protéique est possible dans les feuilles attachées, même après qu'elles ont atteint leur taille maximum, cette capacité décroît avec l'âge, irrémédiablement.

PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C., (1939) reprenant l'étude de la protéogenèse réalisée par des fragments de feuilles de Narcisse, cultivés sur solution de glucose et de nitrate d'Ammonium dans les conditions optimum et à la lumière, distinguent un triple effet de celle-ci sur le métabolisme azoté des feuilles. La lumière accroît le taux d'absorption des sels minéraux, ainsi que l'avait déjà signalé CURTIS F. (1935) et que l'ont confirmé depuis PHILLIS E. et MASON T. G. (1945), elle accélère le processus de réduction des nitrates et enfin augmente la vitesse des synthèses protidiques.

Ils retrouvent une capacité très différente des divers segments à effectuer la protéogenèse et le sort de l'N organique total leur paraît lié directement à la stabilité des protéines cellulaires.

Les mêmes observations peuvent être faites à propos des recherches de PEARSAW W. H. et BILLIMORIA M. C. qu'à propos de celles de MOTHES K. et de PAECH K.: absence de critique des lésions des tissus utilisés, absence d'analyse des glucides présents effectivement dans les fragments d'organes.

Commentant l'incapacité ou la difficulté des feuilles détachées à réaliser la protéogenèse, CHIBNALL A. C. (1939) est tenté de suggérer l'existence d'une influence du système racinaire, peut-

être de nature hormonale, assurant la régulation de la teneur en protéines des feuilles.

Mais PHILLIS E. et MASON T. G., en 1942, étudiant les variations de la teneur en protéines de disques découpés dans les feuilles de Coton de tous âges, cultivés sur une solution nutritive exclusivement minérale et renfermant du nitrate de Calcium comme aliment azoté, à la lumière, et les comparant aux variations présentées par des disques prélevés au cours du temps sur des feuilles laissées attachées aux tiges, constatent dans les deux cas un accroissement de la teneur en protéines en même temps qu'un accroissement plus considérable du taux d'N soluble. Lorsque ce dernier est faible, sa croissance est suivie d'une protéogenèse. A partir d'une certaine limite, une élévation de la teneur en N soluble entraîne une diminution du taux d'N protéique exprimé par rapport au poids de substance sèche. Ils concluent à la détermination de la protéogenèse dans les feuilles par des facteurs foliaires seuls, indépendants des influences que peuvent exercer sur elle les autres organes de la plante (1).

Cette indépendance est-elle totale ? N'y a-t-il pas lieu de faire une distinction entre la protéogenèse liée à la division cellulaire et celle qui peut intervenir lors de l'élongation cellulaire ou dans les feuilles adultes ayant atteint leur taille maximum. La seconde a lieu surtout dans les chloroplastes alors que la première intéresse d'abord les protéines cytoplasmiques et nucléaires.

De ROPP R. S. (1945, 1946 *a* et *b*), en effectuant des boutures de chaume de Seigle, a fait les observations suivantes : la division du méristème basal de la feuille n'a lieu que si celle-ci est reliée à des racines (normales ou de néoformation sur le chaume). Cependant, dans ces conditions, seuls importent les aliments minéraux azotés (NO_3^-) et glucidiques (saccharose).

Les substances telles que les vitamines du groupe B, les vitamines E, K, les acides β indol et naphthalène-acétique, les dérivés puriques, les extraits bruts de grains de Pois, de Seigle, germés ou non, de Levures, ne provoquent aucune croissance supplémentaire.

Les méristèmes reçoivent normalement des substances orga-

(1) Il faut remarquer que PHILLIS E. et MASON T. G. déterminent les teneurs en protéines des tissus simplement par différence entre l'N total et l'N dosé dans le suc exprimé après congélation, ce qui est peu sûr.

niques, leur alimentation n'est pas uniquement minérale, l'N absorbé par les racines peut être immédiatement engagé dans des synthèses d'amino-acides (VIETS F. G. jr., MOXON A. L. et WHITEHEAD E. I. (1946), expériences sur les plantules de Maïs).

Le problème des relations entre l'entretien protéique, la protéogenèse et la teneur en glucides dans les feuilles détachées et les raisons du comportement différent des feuilles détachées et des feuilles laissées sur les plantes sont loin d'être éclaircis.

Il faut signaler enfin que BURSTRÖM H., en 1943, a annoncé avoir mis en évidence, avec des feuilles de Blé exposées à la lumière, l'existence d'une fixation de CO_2 qui serait rapidement engagé non dans une photosynthèse glucidique, mais dans une synthèse de substances azotées. Ce serait une preuve de l'action directe de la lumière sur le métabolisme azoté.

2. *Le métabolisme azoté et la respiration des feuilles.*

Une hypothèse séduisante sur les relations entre le métabolisme azoté et la respiration a été présentée en 1937 par GREGORY F. G. et SEN P. K., à la suite de leurs recherches sur les feuilles d'Orge prélevées successivement, au cours de la végétation, sur des plantes plus ou moins carencées en Azote ou en Potassium.

Ils admettent :

1° que la synthèse protéique et la protéolyse ne sont pas deux processus en simple équilibre l'un par rapport à l'autre (1), sinon

(1) Cette idée n'est pas nouvelle, on la trouve sous une autre forme émise par exemple par SCHULZE E., il y a cinquante ans (Voir CHIBNALL A. C., 1939) : la protéolyse aboutit à la formation d'amino-acides alors que la protéogenèse s'effectue directement à partir de l'asparagine (chez les Légumineuses), née elle-même d'une combinaison des chaînons carbonés glucidiques et de l'N inorganique.

ALCOCK R. S. (1936) l'a renouvelée sous la forme suivante, qualifiée d'« alternatif path » : la protéogenèse débiterait par une condensation de formol avec l'ammoniaque ou les nitrites. Il en résulterait la formation d'une molécule organique azotée. Les protéines se formeraient ensuite par polymérisation de cette molécule et des remaniements internes feraient apparaître les chaînes peptidiques. Les molécules protéiques primaires ainsi constituées, communes à tous les êtres vivants, subiraient une diversification par addition ou soustraction de groupes amino-acides. La protéolyse, évidemment, ne ferait apparaître que ces derniers.

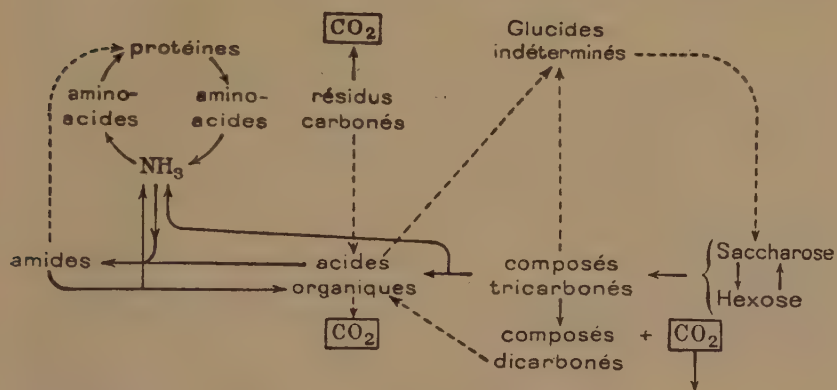
(suite p. 107).

l'équilibre N protéique — N amino-acides serait régi par la loi d'action de masse, ce qui n'est généralement pas le cas ;

2° que ces deux cycles sont simultanés ;

3° que l'Intensité respiratoire est en corrélation directe avec la teneur des organes en amino-acides (en particulier les feuilles carencées en Potassium ont une teneur en amino-acides et une I. R. élevées, quoique leur teneur en glucides soit très réduite).

Ils résument leur hypothèse sous la forme du schéma suivant :



d'après lequel le cycle de protéogenèse et de protéolyse serait continuellement à l'œuvre, les résidus carbonés désaminés des amino-acides étant oxydés au fur et à mesure de la protéolyse et de nouveaux acides aminés synthétisés assurant la régénération des protéines. Les glucides fourniraient les chaînons carbonés nécessaires à cette régénération (1).

Il est inutile de souligner le caractère hautement spéculatif d'une telle hypothèse (Voir PETRIE A. H. K., 1943).

GREGORY G. F. et SEN P. K. eux, supposent que les amino-acides, les mêmes d'ailleurs, comme on l'admet généralement, sont à l'origine de la condensation protéique comme à l'aboutissement de la protéolyse.

(1) La synthèse des amino-acides peut résulter de la condensation de NH_3 avec les acides α -cétoniques qui leur correspondent. Un exposé de cette question a été donné par CHIBNALL A. C. (1939). En voici les points principaux, auxquels j'ai ajouté quelques compléments récents.

KNOOP et OESTERLIN ont montré en 1925* que les tissus animaux pouvaient catalyser cette condensation.

WEIL-MALHERBE (1936*) l'a confirmé à propos de l'acide glutamique et de l'acide α -cétoglutarique mis en présence de tissu cervical. En 1937*, BRAUNSTEIN et KRITZMAN ont isolé des tissus animaux (muscle, foie) un groupe de diastases : les transaminases ou aminophorases, qui catalysent *in vitro* le

La respiration serait en partie la traduction de cette démolition et de cette reconstruction continues.

RICHARDS, F. J. (1938), dans ses recherches sur les relations

transfert réversible du groupement NH_2 des acides aspartique et glutamique aux acides α -cétoniques tels que l'acide pyruvique.

VON EULER, ADLER, GUNTHER et DAS (1938*) ont rapporté une telle réaction à l'activité d'une déshydrase de l'acide glutamique présente dans les extraits végétaux. Une diastase semblable a été retrouvée par DAMODARAN et NAIR (1938*) dans des plantules de Légumineuses et dans les limbes du Ray-grass.

VIRTANEN A. I. et LAINE T. (1938, 1941) ont montré que l'acide aspartique pouvait réagir de même avec les acides cétoniques en présence de tissus de Pois écrasés. VIRTANEN A. I., ARHILM A. A., SUNDMAN J. et JAENNES L. (1943) l'ont confirmé. ALBAUM H. G. et COHEN P. P. (1943) ont découvert la présence de transaminases dans les embryons d'Avoine. L'existence de transaminases a été également mise en évidence dans les germes de Blé, dans des feuilles, des tiges, des racines et des fruits divers (LÉONARD M. J. K. et BURRIS R. H., 1947).

En 1932* VIRTANEN et LAINE ont montré que les germinations de Pois et les jeunes feuilles de Trèfle rouge renfermaient une aspartase catalysant directement la fixation de NH_3 par l'acide succinique pour former de l'acide aspartique.

D'autre part, CHIBNALL et GROVER (1926*) ont extrait des germinations de l'Orge une asparaginase catalysant la fixation de NH_3 par l'acide aspartique et donnant ainsi naissance à l'asparagine.

Parallèlement, KREBS (1935*) a montré l'activité similaire de tissus animaux vis-à-vis de l'acide glutamique pour former de la glutamine et VICKERY, PUCHER et CLARK (1936*) ont réalisé la même réaction avec des extraits de racine de Betterave.

VIRTANEN (1938) et ses collaborateurs ont étendu ces résultats aux Bactéries symbiotiques des nodosités des Légumineuses qui effectueraient des synthèses identiques à partir de l'acide oxalacétique et de l'hydroxylamine.

Il faut enfin ajouter, pour donner une réalité physiologique et non seulement biochimique à cette question, qu'EMBDEN et SCHMITZ ont établi que la perfusion hépatique de solutions d'acides α -cétoniques était suivie d'un enrichissement du sang efférent en amino-acides. Du VIGNEAUD a montré que l'ingestion par le Chien d'un acide α -cétonique, inutilisable dans la reconstruction de ses protéines, était suivie de l'élimination du dérivé acétylé de l'acide-amino correspondant ; l'acide α -cétonique a donc fixé un groupe NH_2 au cours de son passage dans l'organisme (POLONOVSKI M., 1942).

ROSENBERG A. J. (1946) a mis en évidence le rôle des acides α -acétoniques comme accepteurs et transporteurs du groupe aminé dans la physiologie de *Clostridium saccharobutyricum* et RAUTANEN N. (1946) a montré que l'alanine était le principal amino-acide formé par transamination dans les plantes vertes.

Comment les glucides fournissent-ils les acides organiques α -cétoniques nécessaires à cette synthèse ?

CHIBNALL A. C. (1939) admet que ces acides prennent naissance au cours

entre la respiration, le métabolisme glucidique et le métabolisme azoté des feuilles d'Orge prélevées sur des plantes plus ou moins carencées en Phosphore et en Potassium, a adopté le même point de vue et émis les mêmes hypothèses.

Mais à côté de cette « respiration protidique », il existe également des oxydations glucidiques dont les produits intermédiaires

des réactions du métabolisme intermédiaire de la respiration à partir des monoses. Ce serait en particulier le cas de l'acide pyruvique. JAMES G. M. et JAMES W. O. (1940) ont signalé la formation de l'acide pyruvique dans les racines et les feuilles d'Orge empoisonnées par l'acétaldéhyde ou les acides aromatiques sulfoniques, qui inhiberaient une carboxylase catalysant normalement sa dégradation. LATIES G. G. (1947) a montré que l'intensité des échanges gazeux des racines d'Orge empoisonnées par l'acide moniodoacétique, à peu près nulle en présence de glucose, retrouvait une valeur normale par addition d'acide pyruvique.

Le mécanisme de la genèse des diacides tétracarbonés est encore mal connu. L'acide α -cétoglutarique nécessaire à la synthèse de l'acide glutamique proviendrait de la condensation de l'acide pyruvique avec l'acide oxalacétique et formation d'acide citrique, puis les diverses réactions indiquées par KREBS H. A. et JOHNSON W. A. (1937) lui donneraient naissance à partir de ce dernier. Le cycle de KREBS-JOHNSON permettrait peut-être également de fournir les diacides tétracarbonés. Ces déductions manquent encore quelque peu de bases physiologiques. Cependant, VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1946) — recherches sur le métabolisme azoté et le métabolisme des acides oxalique, citrique, malique et succinique au cours du développement de *Narcissus poeticus* —, VICKERY H. B. et ABRAHAMS M. D. (1949) — recherches sur le métabolisme des acides organiques des feuilles de Tabac cultivées sur des solutions de *d*-isocitrate et d'acétate de Potassium —, PUCHER G. W. et VICKERY H. B. (1949) — recherches sur le métabolisme des acides organiques des feuilles de Tabac cultivées sur des solutions d'acides organiques divers (malique citrique, succinique, fumarique, pyruvique, lactique, tartrique, malonique), PUCHER G. W., LEAVENWORTH C. S., GINTER W. D. et VICKERY H. B. (1947), PUCHER G. W., VICKERY H. B., ABRAHAMS M. D. et LEAVENWORTH C. S. (1949) — recherches sur le métabolisme des acides organiques des feuilles de *Bryophyllum calycinum* —, concluent que le cycle de KREBS ou un cycle très voisin peuvent rendre compte des variations quantitatives des teneurs en acides citrique, isocitrique et malique des feuilles examinées.

VICKERY H. B. et PUCHER G. W. (1939) ont également essayé de rendre compte, par des dosages d'acides organiques dans les feuilles de Rhubarbe détachées, du mécanisme de la genèse de la glutamine. Ils attirent l'attention sur le fait que la formation d'amides ne dépend pas seulement de la teneur en NH_3 des tissus, mais également de leur teneur en précurseurs carbonés. Mais ces auteurs n'ont pas effectué les analyses d'échanges gazeux respiratoires qui seules permettraient de lier un cycle biochimique, dont l'existence est supposée, au cours de la physiologie.

De plus, la formation d'amides soustrait théoriquement du cycle de

ne sont pas impliqués dans le cycle protéique, sinon des observations telles que celle de SANKARAN R. (1936), [cité par GREGORY F. G. et SEN P. K. (1937)] qui constate une augmentation de l'I. R. des limbes détachés d'Orge lorsqu'on les immerge dans une solution de glucose et de nitrate d'Ammonium, alors que la protéogénèse est peu probable, seraient inexplicables.

WOOD J. G. (1941), au cours de ses expériences sur *Andropogon sudanensis*, analyse les feuilles prélevées sur des plantes nourries avec une solution nutritive renfermant du sulfate d'Ammonium. Il étudie en particulier les échanges gazeux dans l'air et en atmosphère d'Azote par les variations de la conductivité électrique des gaz. Il trouve une corrélation entre l'I. R. exprimée par rapport à la teneur en protéines cytoplasmiques, à la fois avec les teneurs en amino-acides, en saccharose, en acide citrique et en acide malique, et constate une plus grande utilisation « respiratoire » des amino-acides dans l'air que dans l'Azote ! Wood J. G. suggère que l'état d'équilibre entre les protéines et les amino-acides et entre les amides et les amino-acides peut être déterminé par le cours des oxydations respiratoires.

Il essaye, pour interpréter ses résultats, d'insérer dans ses déductions le cycle de KREBS-JOHNSON, lié aux mécanismes de transamination (voir la note précédente).

En 1942, Wood J. G., commentant ses recherches sur le métabolisme des feuilles de *Phalaris tuberosa* prélevées sur des plantes nourries avec des solutions de glucose et de sel d'Ammonium,

KREBS-JOHNSON quelques-uns de ses éléments (acide oxalacétique, acide α -céto-glutarique) qui en sont l'essence même, et une telle tentative ne nous éclaire en rien ni sur leur remplacement ni sur leur genèse excédentaire.

Dans un domaine voisin FROMAGEOT C. et DESNUELLE P. (1934) constatant que la Levure ne forme des amino-acides, en anaérobiose, que lorsqu'elle fermente activement, suggèrent qu'il existe un lien entre des produits intermédiaires de la fermentation (tels que l'acide pyruvique) et la genèse des amino-acides (tels que l'alanine).

Il faut ajouter que récemment WERKMAN C. H. et WOOD H. G. (1942), en utilisant du CO_2 marqué par l'isotope C^{13} , ont montré que le tissu hépatique peut réaliser la fixation de CO_2 sur l'acide pyruvique, formant ainsi des acides tétracarbonés (malique, succinique). Les *Propionibacterium* peuvent effectuer la même réaction.

Les références suivies d'un astérisque se trouvent dans l'ouvrage de CHIBNALL A. C. (1939). Elle ne sont pas mentionnées dans la bibliographie de ce travail.

conclut que lorsque la teneur en protéines des tissus s'élève, la teneur en glucides diminue.

Il suppose que le précurseur carbohydrogéné dans la protéogénèse est un corps intermédiaire de la dégradation respiratoire glucidique, formé à une vitesse indépendante de la concentration en glucides (ce qui implique que l'oxydation glucidique est dans sa vitesse, indépendante de la teneur en glucides)!

Les teneurs en amino-acides et en amides seraient en corrélation directe avec la teneur des tissus en NH_3 et la respiration paraîtrait directement liée au taux d' amino-acides.

La teneur en protéines serait en équilibre avec la teneur en amino-acides (expression du type de la loi d'action de masse), les observations non concordantes résultant, ainsi que je l'ai signalé précédemment, de l'oxydation plus rapide de certains amino-acides (cystine) qui peut totalement déséquilibrer le système : protéines + $\text{HO}_2 \rightleftharpoons$ amino-acides.

Aucun de ces auteurs n'a fait l'étude parallèle des variations du Quotient respiratoire.

Non que celui-ci permette de choisir entre des interprétations éloignées des résultats bruts d'expériences. Mais dans un métabolisme d'entretien (dans la mesure où un tel métabolisme est concevable pour un végétal) ou dans un métabolisme de croissance ou de sénescence, que la dégradation et la reconstruction protidiques soient simultanées ou successives, il est à prévoir que les mécanismes de conversion protidique et glucidique ne se font pas toujours sans que des restes de dégradation ou de synthèse ne puissent s'accumuler temporairement. Les amides en sont un type. Leur formation, comme leur dégradation, peut se traduire dans les échanges gazeux par des variations de Quotient.

De plus, la protéogénèse empruntant ses chaînons carbohydrogénés aux glucides doit, théoriquement, comme l'oxydation protidique, s'accompagner de variations du Q. R. apparent (étant donnés les Quotients de combustion différents des glucides et des protides) si une autre oxydation simultanée ne vient pas les masquer.

La continuité des remaniements des molécules protéiques *in vivo* a reçu une confirmation par les travaux effectués avec l'isotope lourd d'Azote N^{15} (1).

(1) L'expérience la plus frappante est peut-être celle de SCHOENHEIMER R., RATNER S. et RITTENBERG D. (1939) : des Rats adultes sont nourris avec

VICKERY H. B., PUCHER G. W., SCHOENHEIMER R. et RITTENBERG D. (1940) ont administré à un jeune plant de Tabac, sous forme de sel d'Ammonium, de l'Azote N^{15} . Ce dernier est rapidement absorbé et se retrouve dans toutes les parties de la plante, en excès par rapport à la quantité totale d'N fixé pendant la période de croissance correspondante, ce qui indique que l'isotope n'est pas seulement présent dans les protéines néoformées, mais qu'une partie a remplacé l'N normal dans les molécules des protéines préexistantes. Parmi les acides aminés les plus riches en isotope N^{15} se signalent les acides glutamique et aspartique.

En pleine floraison, le Sarrasin montre le même phénomène, alors que sa croissance est négligeable.

Ces résultats illustrent la continuité des dégradations et des synthèses protidiques, indépendamment même des phénomènes de croissance protoplasmique.

Je mentionnerai, pour terminer cette analyse, bien qu'il ne s'agisse pas de feuilles, les travaux de STEWARD F. C. et de ses collaborateurs, effectués avec des rondelles de Pomme de terre, et qui illustrent la complexité du problème au point de vue physiologique.

STEWARD F. C. et PRESTON C. (1940) ont étudié les Intensités respiratoires de ces fragments d'organes immergés dans des solutions aérées de chlorure, bromure, nitrate de Potassium et de Calcium et de sulfate de Potassium.

Ils constatent que l'I. R. s'élève avec la concentration en sels de Potassium du milieu externe.

Elle diminue par contre quand on augmente la concentration en sels de Calcium.

de la leucine marquée à la fois par N^{15} et par le Deuterium, pendant 3 jours, période pendant laquelle ils gardent un poids constant. On peut affirmer par suite qu'ils ne forment pas de nouvelles molécules protéiques, étant en équilibre azoté. Les $2/3$ de l' N^{15} sont fixés par l'organisme et la plus grande partie est effectivement retrouvée dans les organes. Le sérum est le plus riche.

La leucine doublement marquée est retrouvée dans tous les organes analysés. Il y a donc bien remplacement de cet amino-acide molécule pour molécule dans de nombreuses protéines, ce qui suppose un remaniement de ces édifices colloïdaux sans qu'ils changent de constitution, critère de leur spécificité organique et zoologique. Des atomes de N^{15} sont retrouvés dans d'autres amino-acides à la suite d'une redistribution de l'isotope. La lysine seule fait exception. Les acides glutamique et aspartique sont les plus riches. De la leucine marquée seulement par le Deuterium est également décelée.

La protéogenèse suit une course parallèle, sauf en présence de Nitrate de Calcium qui l'accroît tout en diminuant l'I. R.

Ils interprètent leurs résultats ainsi :

En présence de sels de Potassium, la protéogenèse s'effectue aux dépens des amino-acides présents qui subissent d'abord une désamination et une oxydation de leurs chaînes carbonées (1).

Les protéines se forment à partir de l' NH_3 ainsi libérée et des glucides (ou de leurs dérivés). L'oxydation des amino-acides est cause de l'accroissement de l'I. R.

Avec $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$, l'Intensité respiratoire n'est pas augmentée proportionnellement à la quantité de protéines formées, la synthèse s'effectuant à partir d'une source azotée inorganique (l'oxydation des amino-acides n'a pas lieu).

Enfin STEWART F. C., BERRY W. E., PRESTON C. et RAMAMURTI T. K. (1943) constatent que les fragments de Pomme de terre conservés à basse température (2°C) s'appauvrissent en protéines et s'enrichissent en amino-acides. Ils perdent leur faculté de réaliser la protéogenèse, ainsi que leur activité oxydasique. Ces chercheurs admettent qu'une partie seulement de l'émission du CO_2 respiratoire est liée à la protéogenèse.

Les relations entre la teneur en glucides, la teneur en protides et la respiration ne sont claires, ni à propos du métabolisme des feuilles détachées, ni à propos du métabolisme des feuilles laissées en place sur les plantes. Il est très malaisé de comparer les expériences diverses les unes aux autres. On ne peut pas dans chaque cas caractériser quels sont les facteurs limitants des phénomènes observés.

Dans une seconde série d'expériences, un essai simplement physiologique est tenté dans cette voie, avec des limbes détachés maintenus à la lumière pendant le jour (Expériences V, VI, VII, VIII) ou enrichis artificiellement en glucides (Expérience IX) et carencés ou non en Azote.

Dans quelle mesure l'I. R. et le Q. R. suivent-ils les variations des différents groupes de métabolites azotés, dans quelle mesure suivent-ils les variations du taux des glucides ?

Telles sont les questions auxquelles j'ai essayé de répondre.

(1) (L'ion K accélère la protéogenèse, RICHARDS F. J. et TEMPLEMAN W. G., 1936).

B. Les relations entre les échanges gazeux respiratoires et le métabolisme protidique des limbes à faible teneur glucidique

1. Partie expérimentale

Dans les expériences V, VII, VIII, les limbes proviennent de plantes qui ont reçu une alimentation minérale complète ou qui ont été légèrement carencées en Azote au cours d'un traitement préalable. Les plantes développées sur un sol normal sont arrachées (Blé, Sarrasin) ou coupées au ras du sol (Haricot d'Espagne) quelques jours avant le début de l'expérience proprement dite. Les racines, les bases des tiges, sont débarrassées de la terre, lavées et plongées dans un milieu nutritif liquide qui comprend ou non un sel ammoniacal. L'aliment azoté fourni est toujours un sel d'Ammonium afin d'éliminer l'action propre de l'ion NO_3^- sur les échanges gazeux respiratoires, action qui, sur l'Intensité, peut être identique à celle des glucides, ainsi que l'ont établi RUHLAND W. et ULLRICH W. (1929) en expérimentant avec des feuilles de *Ligustrum japonicum* et de *Heracleum giganteum*. L'ion NH_4 peut être parfaitement utilisé par les plantes [Voir Mac KEE H. S. (1937), BONNER J. (1946), à la condition d'éviter toute acidification excessive du milieu de culture (PRIANISCHNIKOV D., 1924 a)].

Milieu azoté (Milieu N)		Milieu non azoté (Milieu A)	
$\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$	1 g.	SO_4Na_2	1,07 g.
KCl	0,3	KCl	0,3
SO_4Mg	0,5	SO_4Mg	0,5
$(\text{SO}_4)_2\text{Fe}_2$	0,4	$(\text{SO}_4)_2\text{Fe}_2$	0,4
$(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2$	5	$(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2$	5
H_2O	1.000	H_2O	1.000

Ces milieux ont un pH voisin de 6 et qui se maintient constant au cours de l'expérience. Leur composition est voisine de celle des liquides préconisés par ZINZADŽE C. (1932), pour la culture du Blé et du Sarrasin sur milieux liquides tamponnés.

Ils sont changés chaque jour, matin et soir.

Après quelques jours, les limbes sont récoltés, un fragment de gaine, de pétiole ou de pétiole laissé adhérent, et disposés dans des bacs, à la serre.

Les limbes constituent trois séries de lots traités différemment par la suite :

- 1^o Lots N : limbes provenant de plantes non carencées en N.
- 2^o Lots A : limbes provenant de plantes carencées en N.
- 3^o Lots R : limbes provenant de plantes carencées en N.

Les limbes des lots N sont placés sur milieu N (le fragment de gaine, de pétiole ou de pétiole immergé dans le liquide), les limbes des lots A et R sur milieu A.

Après une période de repos de quelques heures, une série de prélèvements est faite pour analyse.

Les limbes utilisés pour la mesure des échanges gazeux respiratoires, après un séjour dans les enceintes, à l'obscurité, sont replacés sur le milieu liquide et leurs échanges gazeux étudiés périodiquement. Ainsi, dans ces mesures, les causes d'erreurs dues aux variations individuelles sont éliminées.

Après le premier séjour en enceinte, *les lots R sont placés sur milieu N, ils sont ainsi alimentés en N après carence.*

Les durées de séjour en atmosphère confinée sont aussi courtes que possible et les fixations du matériel nécessaire pour les autres analyses faites au même moment.

Tous les résultats sont rapportés aux lots de limbes dont les variations de poids de substance fraîche sont suivies en même temps que les échanges gazeux respiratoires.

Expérience V : *Limbes de Blé.*

Les limbes proviennent de plantes issues de graines semées le 22 avril 1947. Les pieds sont arrachés le 11 juin, âgés de 50 jours et possèdent 6 feuilles. Le limbe de la 6^e est incomplètement déroulé. Ils sont placés sur les liquides nutritifs.

Le 14 juin, les limbes n^o 5 sont prélevés, leur longueur est de 20 ± 2 cm., placés sur milieu liquide, dans les serres ($T^{\circ} = 23^{\circ} \pm 5^{\circ}$ C). La première série de mesures et fixations commence le 16 juin à 11 heures. Les lots R sont transférés sur milieu N à 15 heures. La durée de séjour dans les enceintes respiratoires est de 2 heures, à une température de 18°C. Les analyses des échanges gazeux sont faites à l'aide de l'eudiomètre de précision de PLANTEFOL, sur des prises partielles de gaz. L'expérience dure 4 jours.

LOTS N :

1^o Poids de substance fraîche et de substance sèche.

Teneur en eau (Tableau V A).

Le poids de substance fraîche diminue légèrement, la teneur en eau reste constante, le poids de substance sèche subit donc une faible perte.

2^o Echanges gazeux respiratoires (Tableau V B).

L'I. R. diminue régulièrement, le Q. R. voisin de 1 pendant 24 heures diminue ensuite légèrement.

3^o Variations des teneurs en différentes formes azotées (Tableau V C).

1. *N protéique* (2,67 % P. S., initialement), diminue de 22 %.

2. *N soluble organique* (1,38 % P. S., initialement) augmente un peu plus que ne l'indiquerait la seule protéolyse, de sorte que l'*N organique total* s'accroît légèrement.

3. *N des amides instables* (glutamine) augmente pendant toute la durée de l'expérience. Le tableau V D représente les variations de l'*N des amides*, les quantités de glutamine et d'asparagine qui peuvent provenir de la conversion des acides glutamique et aspartique et les quantités de ces amides libérées directement par la protéolyse (Les calculs sont faits sur les mêmes bases que dans l'expérience I).

Il en résulte qu'au moins pendant les 48 premières heures une partie de la glutamine est d'une origine différente de la simple protéolyse et de la conversion en amide de l'acide glutamique libéré.

4. *N des amides stables* (asparagine) augmente mais plus faiblement et plus tardivement que l'*N des amides instables*. Il n'est pas possible, d'après ses variations, d'envisager pour lui une origine autre que la protéolyse (Tableau V D).

5. *N des amino-acides* : augmente mais surtout pendant les deux derniers jours et beaucoup plus faiblement que ne l'indiquerait la protéolyse si elle intervenait seule.

6. *N polypeptidique* augmente légèrement avec la protéolyse.

7. *N ammoniacal* n'augmente qu'en fin d'expérience.

8. *N nitrrique* augmente légèrement au début de l'expérience.

9. *N total* reste pratiquement constant. Une légère augmentation

est constatée, elle provient surtout de l'augmentation de la teneur en N minéral (ammoniacal et nitrique).

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence deux phénomènes :

1° une protéolyse ;

2° un remaniement interne des formes azotées solubles aboutissant à une transformation de l'N aminé en N amidé (glutamine) et même une néoformation d'amides aux dépens de l'ammoniaque absorbée au début. Cette conversion s'accompagne en fin d'expérience d'une diminution de la masse protidique et du Carbone protidique (Tableau V E).

4° Variations du contingent glucidique (Tableau V C).

La teneur en glucides totaux est faible au début de l'expérience (5, 46 % P. S.) en raison du séjour préalable prolongé des limbes à la lumière diffuse. Elle diminue encore au cours de l'expérience, plus rapidement au début qu'à la fin, sans qu'il y ait toutefois carence glucidique (4,44 % P. S., en fin d'expérience).

La diminution de la teneur en saccharose est seule significative.

5° Variations de l'ion oxalique (Tableau V C).

La quantité d'acide oxalique, très faible (0,19 % P. S.) au début de l'expérience, subit une légère diminution.

Le tableau V E indique les variations du Carbone selon ses diverses origines.

Au début de l'expérience, une partie du Carbone glucidique disparaît, puis sa teneur se maintient constante, la photosynthèse compensant les pertes.

Le Carbone protidique, constant pendant 48 heures, subit ensuite une légère diminution en relation avec la conversion d'acides-amino en amides (N organique restant alors constant).

L'I. R. diminue avec l'appauvrissement glucidique et protéique. Le Q. R. stationnaire est élevé pendant la période initiale de stabilité protéique, il diminue après 48 heures en raison de l'oxydation du Carbone protidique et de la fixation d'Oxygène nécessaire à la formation des chaînons carbonés d'amides.

Lots A :

(après 4 jours, les limbes présentent un léger début de jaunissement) :

1° *Poids de substance fraîche et de substance sèche.*
Teneur en eau (Tableau V A).

Le poids de substance fraîche augmente, ainsi que la teneur en eau (La teneur en eau des limbes carencés est, à l'origine, plus élevée que celle des limbes alimentés en N). Le poids de substance sèche diminue légèrement.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau V B).

L'I. R., moins élevée que l'I. R. des limbes de la série N, reste constante. Le Q. R., élevé au début, diminue surtout en fin d'expérience, plus que celui des limbes de la série N.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées* (Tableau V C).

1. *N protéique* (2,86 % P. S., initialement). Les limbes carencés ont une teneur en N protéique à peu près égale à celle des limbes alimentés en N, mais elle subit par la suite une forte diminution (33 %).

2. *N soluble organique* (1, 11 % P. S.). La teneur en N organique soluble, plus faible que celle des limbes non carencés, augmente mais avec retard sur la protéolyse, de sorte que l'N organique total diminue (12 % de pertes), ce qui correspond également à une perte de Carbone protidique.

3. *N des amides instables* (glutamine) diminue temporairement et retrouve sa teneur initiale en fin d'expérience. Les données du tableau V D n'indiquent pas d'autre origine que la protéolyse directe.

4. *N des amides stables* (asparagine) augmente et cette augmentation est telle qu'il est possible d'envisager une formation indirecte d'asparagine en supplément de l'origine protéolytique directe ou par conversion de l'acide aspartique (Tableau V D).

5. *N des amino-acides* augmente très peu, la plus grande partie des chaînons carbonés des amino-acides dérivés de la protéolyse disparaît.

6. *N polypeptidique* augmente avec la protéolyse.

7. *N ammoniacal* augmente en raison de l'oxydation des amino-acides.

8. *N nitrique* ne présente pas de variations significatives.

9. *N total* diminue (13 % de perte). La protéolyse et l'oxydation protidique entraînent, comme à l'obscurité, une perte d'N par migration des formes solubles vers les parties basales des organes et le milieu liquide.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° une protéolyse plus marquée dans les limbes carencés que dans les limbes alimentés en N ;

2° une oxydation des protides solubles aboutissant à une libération d'ammoniaque et à une perte de Carbone protidique (Tableau V E) ;

3° une perte d'N par migration.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau V C).

La teneur en glucides totaux est à l'origine moins élevée que celle des limbes de la série N (4,45 % P. S.), elle diminue au début de l'expérience. Cette diminution porte surtout sur la teneur en saccharose et en glucides insolubles, mais il n'y a pas carence glucidique complète, la photosynthèse compensant en partie les pertes (1,77 % P. S. de glucides en fin d'expérience).

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau V C).

La quantité d'acide oxalique, très faible (0,15 % P. S.) est en légère augmentation à la fin de l'expérience.

Les variations de la teneur en Carbone selon son origine (Tableau V E) indiquent une chute importante du taux de Carbone glucidique au début de l'expérience, suivie d'une compensation partielle à la suite d'une faible reprise de l'activité photosynthétique.

Le Carbone protidique diminue en même temps rapidement. Une partie de l'Azote libéré par l'oxydation des chaînons protidiques est retenue sous la forme d'amide stable (asparagine), une autre partie est définitivement perdue.

L'I. R., peu élevée à l'origine, reste à peu près constante, l'oxydation des protides suppléant partiellement à l'oxydation des glucides. Par suite, le Q. R. diminue. (Sa légère augmentation après 48 heures peut être liée à l'oxydation de la glutamine formée secondairement au cours de la carence en Azote).

Lots R :

1° *Poids de substance fraîche et de substance sèche.*
Teneur en eau (Tableau V A).

Le poids de substance fraîche et la teneur en eau augmentent pendant les 48 premières heures, puis diminuent jusqu'à retrouver leur valeur initiale. Le poids de substance sèche diminue très légèrement.

2° *Echanges gazeux respiratoires (Tableau V B).*

L'I. R. augmente après la reprise de l'alimentation azotée, puis diminue légèrement pendant les jours suivants.

Le Q. R. se maintient élevé pendant toute la durée de l'expérience.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableau V C).

1. *N protéique* (2,86 % P. S., initialement) diminue au cours de l'expérience (perte finale 20 %, cf. série N).

(La présence d'Ammonium dans le milieu de culture ralentit donc la protéolyse).

2. *N soluble organique* (1,11 % P. S., initialement) augmente régulièrement avec la protéolyse. L'Azote organique total témoigne d'une légère synthèse protidique. La reprise de l'alimentation azotée entrave l'oxydation des substances azotées organiques.

3. *N des amides instables* (glutamine) augmente pendant les 72 premières heures de l'expérience. Les données du tableau V D montrent qu'entre 24 et 72 heures l'accroissement de glutamine dépasse la quantité qui peut provenir directement de la protéolyse et de la conversion en amide de l'acide glutamique. Une origine secondaire de glutamine peut être envisagée aux dépens en partie de l'Ammonium absorbé. Après 72 heures, la teneur en glutamine diminue.

4. *N des amides stables* (asparagine) augmente au début et surtout à la fin de l'expérience. Si son augmentation première correspond à la libération d'asparagine et à la conversion de l'acide aspartique libéré par la protéolyse, la seconde correspond en partie à une formation indirecte (Tableau V D).

5. *N des amino-acides* augmente au cours de l'expérience, plus que ne l'indiquerait la protéolyse.

6. *N polypeptidique* augmente peu et irrégulièrement.
7. *N ammoniacal* augmente légèrement.
8. *N nitrique* reste constant pendant la durée de l'expérience.
9. *N total* reste constant. Le ralentissement de la protéolyse, la faible oxydation des protides, s'accompagnent de sa stabilité.

Les variations des différentes formes azotées traduisent les phénomènes suivants, en relation avec la reprise de l'alimentation azotée :

- 1° un ralentissement de la protéolyse ;
- 2° un ralentissement de l'oxydation protidique ;
- 3° une conversion de l'N aminé en N amidé (cf. série N) ;
- 4° un ralentissement des migrations de substances azotées (NH_3) des limbes vers l'extérieur.

4° Variations du contingent glucidique (Tableau V C).

La faible teneur en glucides (4,45 % P. S., initialement) diminue mais se maintient plus élevée que celle des lots A. La diminution touche le saccharose et les glucides insolubles, sans qu'il se manifeste de carence glucidique (3,25 % P. S., en fin d'expérience).

5° Variations de l'ion oxalique (Tableau V C).

La faible teneur en acide oxalique (0,15 % P. S.) présente une légère diminution en fin d'expérience.

Les variations de la teneur en Carbone selon son origine (Tableau V E) sont semblables à celles que présentent les lots N. Elles indiquent une chute de la teneur en Carbone glucidique au début de l'expérience, puis, grâce au maintien du taux protéique (ce sont les protéines des chloroplastes qui sont les premières lysées généralement), la photosynthèse compense les pertes glucidiques.

Avec la reprise de la synthèse glucidique, l'I. R. s'élève et reste élevée ensuite, à la faveur à la fois de l'abondance des glucides et de la stabilité protéique.

Avec la reprise de la synthèse protéique et de la photosynthèse, le Q. R. reste élevé. Une faible augmentation peut être due à une synthèse d'acides-amino. Sa diminution en fin d'expérience correspond à la conversion en asparagine de groupements carbonés à plus faible Quotient de combustion.

TABLEAU V A

Limbes de Blé.

**Variations du Poids de substance fraîche (P. F.),
du Poids de substance sèche (P. S.), en mg.,
et de la Teneur en eau (H₂O % P. S.).**

Lot N : 100 Limbes n° 5 *alimentés* en N, provenant de plantes *alimentées* en N.
Lot A : 100 Limbes n° 5 *carencés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.
Lot R : 100 Limbes n° 5 *alimentés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.

		1 16 juin 11 h.	2 17 juin 10 h.	3 18 juin 10 h.	4 19 juin 10 h. 30	5 20 juin 10 h. 30
Lot N	{ P. F.	14.708		14.413		14.405
	{ P. S.	3.283		3.239		3.201
	{ H ₂ O % P. S.	348		345		350
Lot A	{ P. F.	14.320		14.468		14.402
	{ P. S.	3.002		2.971		2.892
	{ H ₂ O % P. S.	377		387		398
Lot R	{ P. F.	14.658	14.950	15.291	14.989	14.518
	{ P. S.	3.073	3.051	3.028	3.016	3.012
	{ H ₂ O % P. S.	377	390	405	397	382

(Les Limbes du lot R sont alimentés en N le 16 juin à 15 h.)

TABLEAU V B

Limbes de Blé.

**Variations de l'Intensité respiratoire
et du Quotient respiratoire de 100 Limbes n°5**

I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par heure, T = 18° C.

		1 16 juin 11 h.	2 17 juin 10 h.	3 18 juin 10 h.	4 19 juin 10 h. 30	5 20 juin 10 h. 30	cm ³ CO ₂ par heure et g. P. S. 20 juin
Lot N	{ CO ₂	4,797	4,033	3,967	3,894	3,059	0,95
	{ O ₂	4,752	4,946	4,248	3,971	3,202	
	{ Q. R.	1,010	1,022	0,934	0,981	0,955	
Lot A	{ CO ₂	2,946	2,735	2,860	2,628	2,932	1,01
	{ O ₂	2,500	2,957	2,815	2,894	3,276	
	{ Q. R.	1,178	0,924	1,016	0,908	0,895	
Lot R	{ CO ₂	3,312	4,771	3,966	3,871	3,704	1,22
	{ O ₂	3,009	4,214	5,581	3,075	3,627	
	{ Q. R.	1,101	1,132	1,107	1,259	1,021	

TABLEAU V C

Variations des principales formes d'Azote, des Glucides et de l'Ion oxalique

(en mg. pour 100 Limbes n° 5).

	Lots N			Lots A			Lots R				
	1 16 juin 9 h.	3 18 juin 9 h.	5 20 juin 9 h.	1 16 juin 9 h.	3 18 juin 9 h.	5 20 juin 9 h.	1 16 juin 9 h.	2 17 juin 9 h.	3 18 juin 9 h.	4 19 juin 9 h.	5 20 juin 9 h.
N protéique	87,65	86,31	67,86	85,71	67,35	57,03	87,73	85,79	77,52	73,89	69,58
N organ. sol.	45,11	50,02	66,55	33,38	38,89	47,83	34,18	39,30	43,21	49,71	49,28
N des Amidés instables	10,24	15,34	18,38	6,30	3,62	6,36	6,46	5,50	9,20	11,70	9,04
N des Amidés stables	5,92	5,64	7,22	1,08	4,34	5,96	1,10	4,38	1,88	0,60	6,62
N des Amino-acides	28,79	30,67	37,30	26,42	29,01	30,68	27,04	27,10	29,59	35,47	33,43
N polypeptid.	0,72	1,16	2,43	0,51	2,38	2,75	0,52	0,46	traces	1,17	0,93
N organ. total	132,76	136,33	134,41	119,09	106,24	104,86	121,91	125,09	120,73	123,60	118,86
N (NH ₃)	1,77	1,55	3,97	0,52	1,40	1,36	0,54	2,44	3,09	1,93	1,66
N (NO ₂)	1,31	2,52	1,57	4,32	2,82	3,27	4,42	4,58	6,78	4,10	4,09
N total	135,84	140,40	139,95	123,93	110,16	109,49	126,87	132,11	130,60	129,63	124,61
Gl. insol.	39,72	30,77	26,89	30,02	11,59	8,68	30,73	22,58	15,75	18,70	14,76
Gl. sol. non réd.	116,87	85,83	93,79	78,35	26,14	17,93	80,21	77,80	34,22	41,32	59,94
Gl. sol. réd.	22,65	27,86	21,45	25,22	13,37	24,58	25,81	21,97	23,92	21,41	23,19
Gl. totaux	179,24	144,46	142,13	133,59	51,10	51,19	136,75	122,35	73,89	81,43	97,89
Ion oxal. (en acide)	4,24	5,18	2,24	4,50	4,16	6,94	4,61	4,57	4,09	2,11	2,95

Limbes de Blé.

TABLEAU V D

*Limbes de Blé.***Gains ou pertes de l'Azote des Amides**

(en mg. pour 100 Limbes n° 5).

	Lots N		Lots A		Lots R			
	1-3	3-5	1-3	3-5	1-2	2-3	3-4	4-5
N des Amides instables	+ 5,10	+ 3,04	— 2,68	+ 2,74	— 0,96	+ 3,70	+ 2,50	— 2,66
N Glutamine dér. de l'Ac. glut. (8 % × 2)	+ 0,22	+ 2,96	+ 2,94	+ 1,66	+ 0,32	+ 1,32	+ 0,58	+ 0,68
Différence d'N de Glutamine	+ 4,88	+ 0,08	—	+ 1,08	—	+ 2,38	+ 1,92	—
N des Amides stables	— 0,28	+ 1,58	+ 3,26	+ 1,62	+ 3,28	— 2,50	— 1,28	+ 6,02
N Asparag. dér. de l'Ac. aspart. (5 % × 2)	+ 0,14	+ 1,84	+ 1,84	+ 1,04	+ 0,19	+ 0,82	+ 0,36	+ 0,44
Différence d'N d'Asparagine	—	—	+ 1,42	+ 0,58	+ 3,08	—	—	+ 5,58
N des Amides dér. des Protéines (5 % × 2)	+ 0,14	+ 1,84	+ 1,84	+ 1,04	+ 0,19	+ 0,82	+ 0,36	+ 0,44

TABLEAU V E

*Limbes de Blé.***Bilan de Carbone** (en mg. pour 100 Limbes n° 5).

	Lots N		Lots A		Lots R			
	1-3	3-5	1-3	3-5	1-2	2-3	3-4	4-5
C Protéines + Polypeptides	— 3	— 54	— 52	— 31	— 6	— 27	— 8	— 14
C Glutamine	+ 11	+ 7	— 6	+ 6	— 2	+ 8	+ 5	— 6
C Asparagine	0	+ 3	+ 6	+ 3	+ 6	— 4	— 2	+ 10
C Amino-acides	+ 8	+ 29	+ 12	+ 7	0	— 11	+ 26	— 9
C d'origine protidique	+ 16	— 15	— 40	— 15	— 2	— 34	+ 21	— 19
C Glucides	— 14	— 1	— 34	0	— 6	— 20	+ 3	+ 6
C Ac. oxalique	0	— 1	0	— 1	0	0	— 1	0
C perdu (—) ou gagné (+), calculé	+ 2	— 17	— 74	— 16	— 8	— 54	+ 23	— 13
					— 62		+ 10	
C perdu mesuré (respiration)	— 106	— 96	— 71	— 71	— 50	— 56	— 51	— 49
					— 106		— 100	
C fixé (photosynthèse) .	+ 108	+ 79	0	+ 55	+ 44		+ 110	
	+ 187		+ 55		+ 154			

Expérience VI : *Limbes de Blé non préalablement détachés*
(*Expérience de contrôle*).

Les variations constatées dans l'expérience précédente sont faibles, et les liens entre le métabolisme protidique et la respiration sont par suite difficiles à distinguer. J'ai donc repris la même étude avec des limbes de Blé dans des conditions différentes. Dans l'expérience présente, les limbes ne sont pas préalablement détachés des plantes, mais prélevés seulement au moment des analyses.

Il n'est pas possible de suivre les variations du poids de substance fraîche (et par suite du poids de substance sèche) sur un petit nombre de limbes avec une précision satisfaisante, aussi les résultats sont-ils exprimés par rapport au poids de substance sèche.

L'expérience est courte (2 à 3 jours), les variations du poids de substance sèche sont faibles. Il est possible de comparer les résultats obtenus à ceux de l'expérience précédente.

Cette expérience a de plus un autre intérêt. Puisque le comportement des feuilles détachées n'est pas directement comparable à celui des feuilles laissées dans leurs conditions normales, il n'est pas inutile de rechercher si les relations que l'on peut constater entre les diverses fonctions physiologiques sont ou non similaires dans les deux cas.

Les plantes sont issues de graines semées le 5 septembre 1947, les pieds sont arrachés le 21 octobre, après 46 jours. Ils portent 6 feuilles, le limbe de la 6^e n'est pas entièrement déroulé. Le traitement est identique à celui décrit dans l'expérience précédente, les milieux liquides sont les mêmes et les plantes sont transportées dans les serres à $T^{\circ} = 12^{\circ} \pm 4^{\circ} \text{C}$. Seuls les limbes n^o 5, longs de $18 \pm 2 \text{ cm}$. sont utilisés dans les analyses. Les mesures des échanges gazeux respiratoires comme les analyses d'Azote et de glucides concernent à chaque fois de nouveaux lots de limbes. La durée de séjour dans les enceintes respiratoires est de 1 h. 1/2 à 2 h., à l'obscurité et à $T^{\circ} = 16^{\circ} \text{C}$. Les mesures sont faites après extraction totale des gaz avec l'eudiomètre de précision.

Le transfert des plantes du lot R, du milieu A sur le milieu N, est fait après les premiers prélèvements, le 27 octobre à 11 h.

LOTS N :

1° *Variations de la teneur en eau* (Tableau VI A).

La teneur en eau, très élevée, décroît au cours du temps.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VI B).

L'I. R. décroît, mais très légèrement ; le Q. R. décroît également, il est très bas en fin d'expérience.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableau VI C).

L'N protéique diminue légèrement (13 % en 48 h.).

L'N organique soluble, très important quantitativement (50 % de l'N protéique), diminue également (11 %), l'N organique total diminue donc (13 % de perte par protéolyse, oxydation et migrations des formes solubles).

L'N des amides instables s'accroît très légèrement, l'N des amides stables également. En raison des migrations, il n'est pas possible d'établir un bilan des amides.

Inversement, l'N des amino-acides diminue, l'N polypeptidique reste constant. L'N ammoniacal double en fin d'expérience, l'N nitrique également, mais leurs teneurs sont trop faibles pour être significatives.

Ces variations mettent en évidence les phénomènes suivants : une protéolyse, une désamination d'amino-acides, une formation d'amides, une perte d'azote soluble organique (oxydation, migrations). Pendant cette période de séjour à la lumière diffuse, par des journées très peu ensoleillées, le métabolisme azoté des limbes est intermédiaire entre le métabolisme diurne et le métabolisme nocturne (cf. CHIBNALL A. C., 1924 *a*), mais les migrations sont faibles ou compensées en partie par l'absorption d'Azote minéral.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VI C).

La teneur en glucides totaux (5,54 % P. S., initialement) est faible et reste constante.

La photosynthèse, peu active, parvient à compenser les pertes par oxydations respiratoires. Les teneurs en saccharose et en glucides insolubles diminuent. Vis-à-vis des glucides comme des protéines, la tendance à l'hydrolyse l'emporte. Un Q. R. bas accompagne l'oxydation des chaînons carbonés protidiques et leur conversion en amides, formes de migration azotées par excellence.

LOTS A :

1° *Variations de la teneur en eau* (Tableau VI A).

La teneur en eau, plus élevée que celle des limbes de la série N, reste constante.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VI B).

L'I. R. diminue après 24 heures, puis s'élève et dépasse celle des lots N, mais ses variations sont de faible amplitude. Le Q. R. diminue considérablement en fin d'expérience, de même que celui des limbes du lot N.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableau VI C).

L'N protéique diminue (17 % en 48 heures), l'N organique soluble (40 % de l'N protéique) s'élève, l'N organique total diminue très peu (5 %), les migrations sont peu actives par rapport à la protéolyse.

L'N des amides instables est constant, l'N des amides stables augmente beaucoup par contre ($\times 16$) alors que l'N des amino-acides reste constant. L'augmentation de la teneur en asparagine est liée à la protéolyse importante et à la conversion des amino-acides sur place.

L'N ammoniacal s'élève un peu, l'N nitrique reste constant.

L'N total diminue légèrement (migrations).

Ces variations mettent en évidence les phénomènes suivants : une protéolyse plus importante que dans les limbes de la série N, une oxydation des amino-acides avec conversion de l'N aminé en N amidé.

La carence en Azote, pendant une période de métabolisme peu actif, a peu affecté le métabolisme azoté des limbes.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VI C).

La teneur en glucides totaux (3,57 % P. S., initialement) est plus faible que celle des limbes de la série N, elle reste constante.

La photosynthèse peu active compense les pertes respiratoires. La teneur en saccharose, basse, reste constante. La protéolyse, et l'oxydation des chaînons carbonés des amino-acides qui lui succède activement en présence de faibles taux glucidiques, s'accompagne d'une diminution du Q. R., accentuée par la fixation d'Oxygène liée à la formation des amides.

LOTS R :

1° *Variations de la teneur en eau* (Tableau VI A).

La teneur en eau décroît légèrement après le transfert sur la solution minérale azotée.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VI B).

L'I. R. croît après le transfert et la reprise de la nutrition azotée, puis diminue pendant 40 heures environ et croît de nouveau.

Elle diffère de celle des lots A par son accroissement initial. Le Q. R. s'élève de même après le transfert, puis diminue en fin d'expérience.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableau VI C).

L'N protéique décroît comme celui des limbes des lots N (10 % en 48 heures). L'N organique soluble augmente, mais finalement moins que ne l'indiquerait la protéolyse.

L'N organique total décroît légèrement.

L'N des amides instables reste constant, l'N des amides stables s'accroît fortement, par contre, après 24 heures.

L'N des amino-acides augmente légèrement, l'N polypeptidique reste constant.

L'N ammoniacal s'accroît (oxydation des protides, absorption ?),

L'N nitrique reste constant.

Ces variations appellent les observations suivantes :

La protéolyse est ralentie par l'apport ammoniacal, la désamination s'accompagne d'une conversion d'N aminé en N amidé. La perte d'N est très faible, comme dans les limbes des lots précédents.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VI C).

La teneur en glucides totaux, faible (3,57 % P. S., initialement), se maintient constante ainsi que le taux du saccharose.

La photosynthèse, peu active, compense les pertes glucidiques respiratoires.

Le cours du métabolisme azoté est semblable à celui des limbes des lots N. Les variations sont faibles, la plus significative est le ralentissement de la protéolyse après l'apport d'aliment minéral azoté.

Corrélativement, l'I. R. s'élève, le Q. R. également, l'effet est de courte durée, et, avec la poursuite de la protéolyse, l'I. R. et le Q. R. diminuent (cf. lots N ou A).

TABLEAU VI A

Limbes de Blé non préalablement détachés.

**Variations de la Teneur en eau
par rapport à la substance sèche**

Lots N : 20 Limbes n° 5 provenant de plantes *alimentées* en N.Lots A : 20 Limbes n° 5 provenant de plantes *carencées* en N.Lots R : 20 Limbes n° 5 provenant de plantes *carencées* puis *alimentées* en N,
le 27 octobre à 17 h. 30.

		1 27 oct. 10 h.	2 27 oct. 17 h. 30	3 28 oct. 10 h.	4 29 oct. 10 h. 30	5 30 oct. 10 h. 30
Lots N	P. F. en mg.	4.467	4.863		4.519	
	P. S. en mg.	608	685		692	
	H ₂ O % P. S.	635	810		553	
Lots A	P. F. en mg.		4.442		4.516	
	P. S. en mg.		578		595	
	H ₂ O % P. S.		665		659	
Lots R	P. F. en mg.	4.550	4.866	4.643	4.285	4.407
	P. S. en mg.	594	648	603	566	590
	H ₂ % P. S.	666	651	670	657	637

TABLEAU VI B

Limbes de Blé non préalablement détachés.

**Variations de l'Intensité respiratoire
et du Quotient respiratoire**

I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par heure
et par gramme de substance sèche. T = 16° C.

		1 27 oct. 10 h.	2 27 oct. 17 h. 30	3 28 oct. 10 h.	4 29 oct. 10 h. 30	5 30 oct. 10 h. 30
Lots N	CO ₂	1,229	1,318	1,048	1,074	
	O ₂	1,357	1,493	1,355	1,547	
	Q. R.	0,906	0,882	0,770	0,690	
Lots A	CO ₂		1,196	1,046	1,195	1,265
	O ₂	cf. R	1,455	1,156	1,711	1,680
	Q. R.		0,822	0,905	0,700	0,750
Lots R	CO ₂	1,156	1,554	1,116	1,061	1,272
	O ₂	1,190	1,420	1,335	1,481	1,697
	Q. R.	0,971	1,094	0,836	0,716	0,749

Les nombres correspondant aux lots R représentent la moyenne de
2 mesures simultanées.

TABLEAU VI C

*Limbes de Blé non préalablement détachés.***Variations des principales formes d'Azote et des Glucides pour 100 de substance sèche**

	Lots N			Lots A			Lots R			
	1	2	4	A ₁ =R ₁	2	4	2	3	4	5
	27 oct. 9 h. 30	27 oct. 17 h.	29 oct. 10 h.	27 oct. 9 h. 30	27 oct. 17 h.	29 oct. 10 h.	27 oct. 17 h.	28 oct. 9 h. 30	29 oct. 10 h.	30 oct. 10 h.
N protéique .	2,94	2,89	2,54	2,91	2,92	2,41	2,92	2,77	2,64	2,23
N organ. sol. .	1,48	1,50	1,31	1,06	1,14	1,45	1,18	1,01	1,15	1,39
N des Amides instables....	0,26	0,30	0,34	0,26	0,32	0,30	0,27	0,22	0,26	0,32
N des Amides stables	0,10	0,21	0,32	0,02	0,14	0,32	0,03	0,16	0,24	0,20
N des Amino- acides	1,09	0,97	0,63	0,69	0,61	0,79	0,80	0,65	0,67	0,87
N polypeptid.	0,03	0,02	0,04	0,08	0,08	0,12	0,08	0,07	0,01	0,16
N organ. total	4,42	3,39	3,85	3,97	4,06	3,86	4,10	3,78	3,79	3,62
N (NH ₃)	0,10	0,16	0,20	0,03	0,09	0,07	0,06	0,07	0,09	0,17
N (NO ₃)	0,48	0,42	0,82	0,48	0,27	0,37	0,47	0,45	0,47	0,38
N total	5,00	4,97	4,87	4,48	4,42	4,30	4,63	4,30	4,35	4,17
Gl. insol. ...	0,76		0,31	0,44		0,34			0,24	
Gl. sol. non réd.	2,20		1,62	1,36		1,64			1,64	
Gl. sol. réd.	2,58		3,48	1,77		1,52			1,56	
Gl. totaux ...	5,54		5,41	3,57		3,50			3,44	

Expérience VII : Limbes de Haricot d'Espagne.

Les limbes proviennent de pieds issus de graines semées le 28 juillet 1947. La base des tiges est sectionnée le 6 septembre, après 40 jours, au début de la floraison, et immergée dans les liquides nutritifs.

Les folioles latérales des feuilles n° 7 (comptées à partir des sommités florales) sont seules prélevées le 10 et transportées dans les serres, à la lumière diffuse ($T = 20^{\circ} \pm 4^{\circ}\text{C}$).

La première série de mesures et de fixations a lieu le 11 septembre à 10 h.

Les lots R sont transportés sur le milieu N à 12 h. 30.

La durée de séjour dans les enceintes respiratoires est de 2 h., à une température de 17°C .

Les analyses des échanges gazeux sont faites à l'aide de l'eudiomètre de précision, sur prises partielles de gaz. L'expérience dure 48 heures.

LOTS N:

1° *Poids de substance fraîche et de substance sèche. Teneur en eau*
(Tableau VII A).

Le poids de substance fraîche, la teneur en eau et le poids de substance sèche restent constants pendant l'expérience.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VII B).

L'I. R. augmente au cours de l'expérience, surtout à la fin.

Le Q. R. diminue légèrement.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableau VII C).

1. *N protéique* (3,44 % P. S., initialement) diminue de 13 %.

2. *N organique soluble* (1,06 % P. S., initialement) augmente proportionnellement à la protéolyse de sorte que l'N organique total reste constant.

3. *N des amides* (asparagine) s'accroît, les données du tableau VII D indiquent que l'origine de l'asparagine formée ne peut se trouver seulement dans la protéolyse et la conversion de l'acide aspartique en amide. Une genèse supplémentaire d'asparagine se produit.

4. *N des amino-acides* est constant.

5. *N polypeptidique* est constant.

6. *N ammoniacal* est constant.

7. *N nitrrique augmente* ($\times 2$).

8. *N total* est constant.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence deux phénomènes :

1° une protéolyse ;

2° une conversion d'N aminé en N amidé, ce qui suppose une oxydation d'amino-acides avec concentration de l'N sous forme d'asparagine.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VII C).

La teneur en glucides totaux (4,17 % P. S., initialement), faible dès le début de l'expérience, reste constante. La teneur en glucides insolubles diminue au profit des glucides solubles, l'amidon reste cependant présent pendant toute la durée de l'expérience.

La photosynthèse compense les pertes respiratoires.

L'oxydation protidique (Tableau VII E) et surtout l'oxydation glucidique, accélérée par l'hydrolyse des glucides solubles, entraînent l'augmentation de l'I. R.

L'oxydation protidique avec fixation d'O₂ dans la formation de l'asparagine est à l'origine de la diminution du Q. R.

Lots A :

1° Poids de substance fraîche et de substance sèche.

Teneur en eau (Tableau VII A).

Les poids de substance fraîche, de substance sèche et la teneur en eau diminuent à la fin de l'expérience.

2° Echanges gazeux respiratoires (Tableau VII B).

L'I. R. est constante pendant les premières 24 heures, puis s'élève légèrement.

Le Q. R. diminue au cours de l'expérience. Il est plus faible que celui des limbes du lot N.

3° Variations des teneurs en différentes formes azotées (Tableau VII C).

1. *N protéique* (3,33 % P. S., initialement) diminue de 16 % en 48 h.

2. *N organique soluble* (0,89 % P. S., initialement) augmente, mais moins que ne l'indiquerait la protéolyse et l'*N organique total* diminue par suite légèrement (10 % de pertes).

3. *N des amides* (asparagine) s'élève pendant 24 h., et cette élévation est pour la plus grande part en relation directe avec la protéolyse (Tableau VII D).

Une petite quantité d'amides peut également provenir d'une conversion secondaire des amino-acides. Puis l'*N des amides* diminue.

4. *N des amino-acides* augmente également pendant la durée de l'expérience.

5. *N polypeptidique* diminue au contraire de près de 50 %.

6. *N ammoniacal* diminue également.

7. *N nitrice* diminue au cours de l'expérience.

8. *N total*, un peu plus faible que dans les limbes de la série N, au début de l'expérience, diminue de 14 %.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les deux phénomènes suivants :

1^o une protéolyse un peu plus intense que dans les limbes de la série N ;

2^o une oxydation des protides avec perte d'N et conversion partielle d'N aminé en N amidé.

4^o *Variations du contingent glucidique* (Tableau VII C).

La teneur initiale en glucides totaux (4,24 % P. S.) diminue au cours de l'expérience (perte 28 %). Il y a peu d'amidon dans les limbes. La perte des glucides solubles réducteurs est la plus sensible.

La photosynthèse ne compense pas les pertes par oxydations respiratoires, bien que les limbes ne soient à aucun moment en carence glucidique.

La diminution de la teneur en glucides et de la teneur en protéines s'accompagne d'une réduction de l'I. R.

L'oxydation protidique (Tableau VII E) et la formation de chaînons carbonés d'asparagine entraînent une diminution du Q. R. Il est possible que la légère élévation finale du Q. R. soit en relation avec l'oxydation de chaînes carbonées de l'asparagine.

Lots R :

1^o *Poids de substance fraîche et de substance sèche.*

Teneur en eau (Tableau VII A).

Les poids de substance fraîche et de substance sèche ainsi que la teneur en eau diminuent au cours de l'expérience.

2^o *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VII B).

L'I. R. s'élève après le transport des limbes sur le milieu nutritif azoté, puis se maintient constante.

Le Q. R. diminue légèrement. Les variations des échanges gazeux des lots R et N sont semblables après l'apport nutritif ammoniacal.

3^o *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableau VII C).

1. *N protéique* (3,33 % P. S., initialement) se maintient constant au début de l'expérience, puis diminue de 19 %.

2. *N organique soluble* (0,89 % P. S., initialement) augment proportionnellement à la protéolyse, de sorte que l'*N* organique total reste constant au moins pendant 24 heures.

L'apport ammoniacal, qui a retardé la protéolyse, a ralenti également l'oxydation des protides, et la stabilité de l'*N* organique total est maintenue.

3. *N des amides* (asparagine) augmente, surtout après 24 heures. L'augmentation de la teneur en amides, supérieure à l'apport direct protéolytique et à la conversion de l'acide aspartique, suppose une origine secondaire partielle des chaînons carbonés amidés (Tableau VII D).

4. *N des amino-acides* augmente avec la protéolyse, mais plus faiblement.

5. *N polypeptidique* diminue au contraire.

6. *N ammoniacal* augmente en fin d'expérience.

7. *N nitrice* diminue surtout après 48 heures.

8. *N total* reste sensiblement constant.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° une protéolyse que l'apport ammoniacal retarde ;

2° une oxydation protidique, également ralentie par l'apport ammoniacal et une genèse importante d'asparagine.

4° Variations du contingent glucidique (Tableau VII C).

La teneur en glucides totaux (4,24 % P. S., initialement) diminue de 20 % seulement au cours de l'expérience. Si l'amidon est toujours présent en faible quantité, la diminution affecte surtout les glucides insolubles.

La photosynthèse ne compense pas complètement les pertes mais il n'y a pas de carence glucidique.

Le ralentissement de la protéolyse se traduit par une augmentation de l'I. R. Celle-ci se maintient constante par la suite, les pertes glucidiques étant plus faibles que celles des lots A, à la faveur d'une plus grande activité photosynthétique. L'oxydation protidique est également plus faible (Tableau VII E). L'oxydation protidique et la genèse de l'asparagine s'accompagnent d'une diminution du Q. R.

TABLEAU VII A

Limbes de Haricot d'Espagne.

**Variations du Poids de substance fraîche (P. F.),
du Poids de substance sèche (P. S.), en mg., et de la Teneur
en eau (H₂O % P. S.)**

Lot N : 15 Limbes *alimentés* en N, provenant de plantes *alimentées* en N.Lot A : 15 Limbes *carencés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.Lot R : 15 Limbes *alimentés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.

		1 11 sept. 10 h.	2 11 sept. 17 h. 30	3 12 sept. 10 h. 30	4 13 sept. 10 h. 30
Lot N	{ P. F.	13.257	12.743	13.037	12.796
	{ P. S.	1.751	1.765	1.729	1.720
	{ H ₂ O % P. S. .	657	622	654	644
Lot A	{ P. F.	12.611	12.374	12.392	11.435
	{ P. S.	1.688	1.695	1.659	1.643
	{ H ₂ O % P. S. .	635	630	647	596
Lot R	{ P. F.*	12.332	11.424	11.384	10.910
	{ P. S.*	1.678	1.685	1.657	1.626
	{ H ₂ O % P. S. .	635	578	587	571

* Les nombres correspondent à la moyenne des 2 lots R₁ et R₂ utilisés dans l'étude des variations des échanges gazeux.
(Les limbes des lots R₁ et R₂ sont alimentés en N le 11 sept. à 12 h. 30.)

TABLEAU VII B

Limbes de Haricot d'Espagne.

**Variations de l'Intensité respiratoire
et du Quotient respiratoire de 15 Limbes**

I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par heure, T = 17° C.

		1 11 sept. 10 h.	2 11 sept. 17 h. 20	3 12 sept. 10 h. 30	4 13 sept. 10 h. 30	cm ³ de CO ₂ par h. et g. P. S. 13 sept.
Lot N	{ CO ₂	2,212	2,350	2,332	2,686	1,561
	{ O ₂	2,513	2,759	2,820	3,346	
	{ Q. R.	0,860	0,852	0,827	0,803	
Lot A	{ CO ₂	1,913	2,083	2,041	2,245	1,366
	{ O ₂	2,315	2,662	2,830	2,865	
	{ Q. R.	0,826	0,782	0,721	0,784	
Lot R ₁	{ CO ₂	1,917	2,573	2,586	2,635	1,624
	{ O ₂	2,300	3,179	3,162	3,039	
	{ Q. R.	0,833	0,809	0,818	0,867	
Lot R ₂	{ CO ₂	1,872	2,578	2,320	2,514	1,543
	{ O ₂	2,201	3,052	2,926	3,166	
	{ Q. R.	0,851	0,845	0,793	0,794	

TABLEAU VII C

Limbes de Haricot d'Espagne.

Variations des principales formes d'Azote et de Glucides

(en mg. pour 15 Limbes).

	Lots N				Lots A				Lots R			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	11 sept. 10 h. 30	11 sept. 18 h.	12 sept. 11 h.	13 sept. 11 h.	11 sept. 10 h. 30	11 sept. 18 h.	12 sept. 11 h.	13 sept. 11 h.	11 sept. 10 h. 30	11 sept. 18 h.	12 sept. 11 h.	13 sept. 11 h.
N protéique	60,30	57,40	56,26	52,24	56,09	51,43	50,02	47,14	55,76	56,30	51,45	45,30
N organ. sol.	18,53	18,76	20,42	22,39	15,02	15,41	17,30	17,87	14,93	12,75	19,54	22,65
N des Amidés	5,26	6,40	6,84	8,12	3,24	3,62	5,84	4,76	3,22	3,04	6,50	8,04
N des Amino-acides	12,46	11,77	13,35	12,73	9,84	10,48	10,12	12,62	9,58	8,37	12,33	13,48
N polypeptid.	1,79	2,22	0,95	1,96	2,48	2,41	2,29	1,35	2,47	2,39	1,11	1,98
N organ. total	78,83	76,16	76,68	74,63	71,11	66,84	67,32	65,01	70,69	69,05	70,99	67,95
N (NH ₃)	0,89	0,60	1,13	0,91	0,70	0,52	0,48	0,38	0,70	0,76	1,11	2,63
N (NO ₃)	2,28	2,77	4,01	4,71	5,11	4,15	3,93	0,49	5,08	5,39	4,79	3,29
N total	82,00	79,53	81,82	80,25	76,92	71,51	71,73	65,88	76,47	75,20	76,89	73,87
Amidon (et Hémicell.)	18,04	20,65	13,83	16,86	22,11	13,90	13,94	15,61	21,98	17,36	16,74	16,91
Autres Gl. insol.	15,76	18,71	13,49	8,43	16,54	15,26	10,45	11,66	16,44	11,46	11,43	10,73
Gl. sol. non red.	19,96	23,12	16,43	24,08	15,19	30,85	13,27	9,37	15,10	35,38	17,07	13,36
Gl. sol. red.	19,26	21,36	19,88	17,72	17,81	21,02	15,93	14,79	17,62	15,67	11,76	17,07
Gl. totaux	73,02	83,84	63,63	67,09	71,65	81,03	53,59	51,43	71,14	79,87	57,00	57,07

TABLEAU VII D

*Limbes de Haricot d'Espagne.***Gains ou pertes de l'Azote des Amides**

(en mg. pour 15 Limbes).

	Lots N			Lots A			Lots R		
	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4
N des Amides .	+ 1,14	+ 0,44	+ 1,28	+ 0,38	+ 2,22	— 1,08	— 0,18	+ 3,46	+ 1,54
N des Amides dér. de l'Ac. as- part. (5 % × 2)	+ 0,29	+ 0,11	+ 0,40	+ 0,47	+ 0,14	+ 0,29	+ 0,05	+ 0,49	+ 0,62
Différence d'N d'Asparagine .	+ 0,99	+ 0,38	+ 1,08	+ 0,15	+ 2,15	—	—	+ 3,22	+ 1,23
N des Amides dér. des Protéi- nes (5 % × 2)	+ 0,29	+ 0,11	+ 0,40	+ 0,47	+ 0,14	+ 0,29	— 0,05	+ 0,49	+ 0,62

TABLEAU VII E

*Limbes de Haricot d'Espagne.***Bilan de Carbone des Protides**

(en mg. pour 15 Limbes).

	Lots N			Lots A			Lots R		
	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4
C Protéines + Polypeptides ..	— 8	— 7	— 9	— 15	— 5	— 12	+ 1	— 19	— 16
C Amides	+ 2	+ 1	+ 3	+ 1	+ 4	— 2	0	+ 7	+ 3
C Amino-acides	— 3	+ 7	— 3	+ 4	— 2	+ 11	— 5	+ 17	+ 5
C Protides to- taux	— 9	+ 1	— 9	— 10	— 3	— 3	— 4	+ 5	— 8

Expérience VIII : Limbes de Sarrasin.

Les limbes proviennent de plantes issues de graines semées le 22 avril 1947. Les pieds sont arrachés le 26 juin, âgés de 65 jours,

en pleine floraison et les racines sont plongées dans les milieux nutritifs.

Les limbes n° 7 (comptés à partir de la base), auxquels est laissé adhérent un fragment de pétiole, sont recueillis le 29 juin et placés sur milieu liquide dans les serres ($T^{\circ} = 25^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$).

La première série de mesures et de fixations commence le 30 juin à 10 h. 30. Les lots R sont transportés sur le milieu N à 13 h.

La durée de séjour dans les enceintes respiratoires est de 1 h. 30 à 2 heures, à une température de 17°C .

Les analyses des échanges gazeux sont faites à l'aide de l'eudiomètre de précision, sur des prises partielles de gaz. L'expérience dure 48 heures.

Lots N :

1° *Poids de substance fraîche et de substance sèche. Teneur en eau* (Tableau VIII A).

Le poids de substance fraîche et la teneur en eau des limbes diminuent. Le poids de substance sèche reste constant pendant la durée de l'expérience.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VIII B).

L'I. R. diminue dès le début de l'expérience. Le Q. R. est constant pendant 24 heures et diminue légèrement ensuite.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées* Tableau VIII C).

1. *N protéique* (3,68 % P. S., initialement) subit une très faible diminution.

2. *N organique soluble* (0,70 % P. S., initialement) augmente proportionnellement à la protéolyse, l'*N organique total* reste constant pendant la durée de l'expérience.

3. *N des amides* augmente et cet accroissement peut provenir presque entièrement de la protéolyse et de la conversion des acides aspartique et glutamique en amides (Tableau VIII D).

4. *N des amino-acides* augmente d'une quantité légèrement plus faible que ne l'indique la protéolyse.

5. *N ammoniacal et nitrrique* s'élèvent en fin d'expérience.

6. *N total* reste constant.

Les faibles variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° une très faible protéolyse ;

2° une faible désamination des protides en fin d'expérience.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VIII C).

La teneur en glucides totaux, très faible au début de l'expérience (2,72 % P. S.), s'élève, par suite d'une augmentation des teneurs en glucides solubles non réducteurs et en amidon.

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau VIII C).

La teneur en acide oxalique total (9,97 % P. S., initialement) se maintient constante. Une légère dissolution des oxalates insolubles se manifeste.

La photosynthèse est active, elle compense les pertes glucidiques et accroît la teneur en glucides des limbes.

Les légères pertes protéiques (Tableau VIII E), s'accompagnent d'une diminution de l'I. R.

Le Q. R. reste constant, sauf à la fin de l'expérience, lorsque commence l'oxydation des chaînons carbonés protidiques.

LOTS A :

1° *Poids de substance fraîche et de substance sèche.*

Teneur en eau (Tableau VIII A).

Les poids de substance fraîche et de substance sèche et la teneur en eau restent constants.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableau VIII B).

L'I. R. est constante pendant 24 heures, puis s'élève.

Le Q. R. diminue pendant toute la durée de l'expérience.

3° *Variations des teneurs en différentes formes azotées*

(Tableau VIII C).

1. *N protéique* (3,60 % P. S., initialement) diminue de 13 %.
2. *N organique soluble* (0,62 % P. S., initialement) augmente, mais beaucoup moins que ne l'indique la protéolyse. L'*N organique total* diminue donc légèrement.
3. *N des amides* augmente, mais cet accroissement peut provenir entièrement de la protéolyse et de la conversion des acides aspartique et glutamique en amides (Tableau VIII D).
4. *N des amino-acides* augmente, mais faiblement par rapport à la protéolyse.
5. *N ammoniacal* et *N nitrique* s'élèvent légèrement au cours de l'expérience.
6. *N total* diminue après 24 heures.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

- 1° une protéolyse plus importante que celle des limbes des lots N ;
- 2° une désamination des protides et une perte de NH_3 également plus importantes.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VIII C).

La teneur en glucides totaux (2,24 % P. S.) est un peu plus faible que celle des limbes des lots N. Elle se maintient constante et aucune variation des teneurs en glucides solubles ou insolubles n'est significative.

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau VIII C).

La teneur en ion oxalique, très élevée (10,50 % P. S., initialement) augmente au début de l'expérience, puis diminue après 24 heures.

La photosynthèse compense les pertes glucidiques par oxydations respiratoires.

La protéolyse s'accompagne d'une libération d'acides aminés dont une partie est oxydée (Tableau VIII E). L'I. R. diminue légèrement avec la diminution de la teneur en protéines. Le Q. R. diminue également.

L'augmentation de l'I. R., après 48 h., est peut-être en relation avec l'oxydation de l'acide oxalique perdu.

LOTS R :

1° Poids de substance fraîche et de substance sèche.

Teneur en eau (Tableau VIII A).

Les poids de substance fraîche et de substance sèche et la teneur en eau restent constants.

2° Echanges gazeux respiratoires (Tableau VIII B).

L'I. R. diminue pendant 24 h., puis s'élève, comme celle des limbes de la série A.

Le Q. R. se maintient élevé et constant comme celui des limbes de la série N.

3° Variations des teneurs en différentes formes azotées

(Tableau VIII C).

1. *N protéique* (3,60 % P. S., initialement) diminue légèrement (9 %).

2. *N soluble organique* (0,62 % P. S., initialement) augmente proportionnellement à la protéolyse. L'*N organique total* reste constant.

3. *N des amides* augmente, mais cette augmentation ne dépasse pas les quantités fournies par la protéolyse et la conversion des acides aspartique et glutamique en amides.

4. *N des acides aminés* augmente d'une quantité légèrement plus faible que ne l'indiquerait la protéolyse.

5. *N ammoniacal* augmente très légèrement au cours de l'expérience, *N nitrrique* reste constant.

6. *N total* ne présente aucune variation significative.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° une protéolyse faible ;

2° une faible désamination suivie de la conversion de l'N aminé en N amidé ;

3° l'oxydation protidique est ralentie par l'apport ammoniacal et la perte d'N qui l'accompagnerait est limitée par cette conversion.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau VIII C).

La teneur en glucides totaux (2,24 % P. S., initialement) se maintient constante et aucune variation des teneurs en glucides solubles ou insolubles n'est significative.

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau VIII C).

La teneur en acide oxalique reste constante également et, comme dans les limbes des lots N, il se produit une conversion partielle d'oxalates insolubles en oxalates solubles.

La photosynthèse compense les pertes glucidiques résultant de l'oxydation respiratoire. L'I. R. reste élevée, sa légère diminution paraît liée à celle de la teneur en protéines (Tableau VIII C).

L'oxydation protidique est trop faible pour que le Q. R. diminue de manière sensible.

TABLEAU VIII A

Limbes de Sarrasin.

**Variations du Poids de substance fraîche (P. F.),
du Poids de substance sèche (P. S.) en mg.,
et de la teneur en eau (H₂O % P. S.)**

Lot N : 20 Limbes *alimentés* en N, provenant de plantes *alimentées* en N.Lot A : 20 Limbes *carencés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.Lot R : 20 Limbes *alimentés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.

		1 30 juin 10 h. 30	2 30 juin 19 h.	3 1 ^{er} juill. 11 h. 30	4 2 juill. 11 h. 30
Lot N	{ P. F.	17.392		16.653	16.302
	{ P. S.	2.396		2.403	2.408
	{ H ₂ O % P. S.	618		593	577
Lot A	{ P. F.	17.046		17.260	16.812
	{ P. S.	2.447		2.431	2.412
	{ H ₂ O % P. S.	601		610	597
Lot R	{ P. F. *	16.939	17.009	17.117	16.892
	{ P. S. *	2.423	2.426	2.428	2.434
	{ H ₂ O % P. S.	601	609	605	594

* Les nombres correspondent à la moyenne des 2 lots R₁ et R₂ utilisés dans l'étude des variations des échanges gazeux.
(Les limbes des lots R₁ et R₂ sont alimentés en N le 30 juin à 13 h.)

TABLEAU VIII B

Limbes de Sarrasin.

**Variations de l'Intensité respiratoire
et du Quotient respiratoire de 20 Limbes**

I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé p^r heure, T. = 17° C.

		1 30 juin 10 h. 30	2 30 juin 19 h.	3 1 ^{er} juill. 11 h. 30	4 2 juill. 11 h. 30	cm ³ de CO ₂ par heure et par g. P. S. 2 juill.
Lot N	{ CO ₂	3,391	2,813	2,715	2,462	1,02
	{ O ₂	3,197	2,675	2,647	2,617	
	{ Q. R.	1,060	1,051	1,025	0,940	
Lot A	{ CO ₂	3,122	3,006	2,997	3,510	1,45
	{ O ₂	2,873	3,207	3,389	4,104	
	{ Q. R.	1,086	0,937	0,884	0,855	
Lot R ₁	{ CO ₂	3,409	2,680	3,042	3,508	1,38
	{ O ₂	2,884	3,040	2,972	3,202	
	{ Q. R.	1,057	0,881	1,023	1,095	
Lot R ₂	{ CO ₂	2,986	2,579	2,464	2,958	1,27
	{ O ₂	2,669	2,488	2,261	2,880	
	{ Q. R.	1,118	1,035	1,089	1,027	

TABLEAU VIII C

Limbes de Sarrasin.

Variations des principales formes d'Azote, des Glucides et de l'Ion oxalique

(en mg. pour 20 limbes).

	Lots N				Lots A				Lots R			
	1 30 juin 10 h. 30	3 1 ^{er} juill. 11 h. 30	4 2 juill. 14 h. 30		1 30 juin 10 h. 30	3 1 ^{er} juill. 11 h. 30	4 2 juill. 14 h. 30		1 30 juin 10 h. 30	2 30 juin 19 h.	3 1 ^{er} juill. 11 h. 30	4 2 juill. 14 h. 30
N protéique	88,34	86,01	82,74		88,26	83,38	77,18		87,40	84,37	84,98	79,13
N organ. sol.	16,68	16,12	20,03		15,42	17,26	20,27		14,97	17,68	19,50	22,37
N des Amides	1,78	2,20	3,70		0,54	1,46	1,44		0,54	0,68	1,70	3,46
N des Amino-acides ..	14,95	14,21	16,21		15,04	16,05	19,54		14,90	16,88	17,09	18,28
N organ. total	105,02	102,13	102,77		103,38	100,64	97,45		102,37	102,05	104,48	101,50
N (NH ₃)	3,52	4,73	5,85		3,21	4,62	4,58		3,17	4,10	4,25	5,06
N (NO ₃)	0,60	0,67	1,37		0,64	1,46	0,72		0,61	0,58	0,82	0,58
N total	109,14	107,53	109,99		107,20	106,72	102,75		106,15	106,73	109,55	107,14
Amidon (et Hémicell.)	20,49	23,19	23,72		15,81	13,14	12,61		15,65		19,16	18,30
Autres Gl. insol.	18,38	16,17	22,90		14,14	13,32	12,23		14,00		15,51	18,13
Gl. sol. non réd.	14,74	18,24	15,41		13,15	11,86	10,78		13,01		10,49	9,32
Gl. sol. réd.	14,64	13,91	13,44		11,72	14,46	15,65		11,61		18,67	14,38
Gl. totaux	65,25	71,51	75,47		54,82	52,78	51,27		54,27		63,83	60,13
Ion oxal. sol.	46,00	52,38	79,46		43,31	72,44	66,09		42,89	55,31	50,02	78,62
Ion oxal. insol.	192,88	193,20	174,82		213,82	205,66	195,13		211,53	193,35	218,03	184,50
Ion oxal. total	238,88	245,58	254,28		256,93	278,10	261,22		254,42	248,66	268,05	263,12

TABLEAU VIII D

*Limbes de Sarrasin.***Gains ou pertes de l'Azote des Amides**

(en mg. pour 20 limbes).

	Lots N		Lots A		Lots R		
	1-3	3-4	1-3	3-4	1-2	2-3	3-4
N des Amides	+ 0,42	+ 1,50	+ 0,92	— 0,02	+ 0,14	+ 1,02	+ 1,76
N des Amides dér. des A. glut. et aspart. (11,5 %) ..	+ 0,54	+ 0,74	+ 1,12	+ 1,42	+ 0,70	— 0,14	+ 1,34
Différence	—	+ 0,76	—	—	—	+ 1,16	+ 0,42
N des Amides dér. des Pro- téines (5 % $\times$ 2)	+ 0,46	+ 0,66	+ 0,98	+ 1,24	+ 0,60	— 0,12	+ 1,18

TABLEAU VIII E

*Limbes de Sarrasin.***Bilan de Carbone des Protides et de l'Ion oxalique**

(en mg. pour 20 limbes).

	Lots N		Lots A		Lots R		
	1-3	3-4	1-3	3-4	1-2	2-3	3-4
C Protéines	— 7	— 10	— 15	— 19	— 9	+ 2	— 18
C Amides	+ 1	+ 7	+ 4	0	0	+ 2	+ 3
C Amino-acides	— 3	+ 9	+ 4	+ 15	+ 9	+ 1	+ 5
C Protides totaux	— 9	+ 6	— 7	— 4	0	+ 5	— 10
C Ac. oxalique	+ 2	+ 2	+ 6	— 4	— 2	+ 5	— 1

2. Discussion.

Examen comparé des variations de la teneur en eau, des échanges de substances azotées avec le milieu liquide, des teneurs en glucides, en substances azotées, en ion oxalique, et de leur retentissement sur les échanges gazeux respiratoires.

1^o La teneur en eau.

Les limbes de Blé carencés ont une teneur en eau plus élevée que les limbes recueillis sur des plantes alimentées en N.

PETRIE A. H. K. et WOOD J. G. (1938 *a* et *b*) et WOOD J. G. et PETRIE A. H. K. (1938) ont fait la même constatation à propos des feuilles de *Phalaris tuberosa* et de *Lolium multiflorum* plus ou moins carencés en N.

GESSNER F. et SCHUMANN-PETERSEN M. (1948) ont également retrouvé le même fait avec des feuilles de *Tradescantia* et de *Balsamine*.

Au cours de l'expérience, la teneur en eau des limbes des lots A et R augmente, alors que celle des lots N reste constante.

Les limbes carencés de Haricot d'Espagne et de Sarrasin sont, à l'origine, plus pauvres en eau que les limbes alimentés en N ; ensuite la teneur en eau des limbes des lots A et R du Haricot d'Espagne, carencés ou réalimentés en Azote diminue, alors que les limbes des lots N gardent une teneur en eau constante.

Enfin les limbes de Sarrasin conservent toujours une teneur en eau constante.

Il n'est pas possible de mettre en évidence, dans le cas présent, un lien direct entre la teneur en eau des tissus et leur alimentation azotée.

Tout au plus constate-t-on que l'apport continu d'N s'accompagne de la constance de l'hydratation des tissus.

Les variations sont de faible amplitude, les expériences étant de courte durée. Elles concernent des teneurs en eau toujours élevées, le séjour antérieur des plantes sur un milieu liquide a pu déterminer un accroissement tel que le traitement ultérieur est presque sans effet et n'en entraîne pas un nouveau. Le séjour des feuilles sur un tel milieu liquide carencé ou non au point de vue nutritif, mais isotonique, s'accompagne habituellement d'une absorption d'eau ainsi que l'ont montré MASON T. G. et PHILLIS E. (1942), avec des disques foliaires de Coton.

L'absorption intense de liquide constatée avec les limbes placés à l'obscurité et l'évacuation ultérieure ne se retrouvent absolument pas. La transpiration n'est pas supprimée. D'autre part, les tissus restent en bon état, et la régulation de l'hydratation peut

être assurée par le cytoplasme intact (MASON T. G. et PHILLIS E., 1939).

Il est peu probable que ces variations affectent les échanges respiratoires.

2° Les échanges de substances azotées avec le milieu de culture.

Les gains éventuels de NH_3 et les pertes de substances azotées sont exprimés par les variations de l'N total des tissus.

Dans aucune des séries, il n'y a de gains très significatifs d'N (1), cependant le comportement des limbes est très différent selon que la carence est poursuivie ou non. Les limbes des lots A, carencés, perdent de l'Azote. Les limbes des lots N et R qui, au cours de l'expérience, plongent dans une solution saline ammoniacale ne perdent pas de substances azotées.

L'effet du sel d'Ammonium sur des limbes adultes est cependant limité, fait qui peut être mis en relation avec les observations de STAHL A. L. et SHIVE J. W. (1933 *a* et *b*) qui ont constaté que l'Avoine et le Sarrasin n'absorbent abondamment les sels d'Ammonium que lorsque les plantes sont jeunes. Plus ou moins tardivement, mais à peu près à partir de la floraison toujours, ces plantes absorbent plus facilement les nitrates.

AMOS G. L. et WOOD J. G. (1939) ont également décrit un effet limité des sels ammoniacaux sur des feuilles de plantes (*Lolium subulatum*) carencées en N puis alimentées avec des solutions de concentrations variées en $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$. Une première application a un effet certain, elle est suivie d'une augmentation de la teneur en N total, mais les additions suivantes sont peu efficaces.

Si le séjour sur solution de sels d'Ammonium, à la lumière, n'est pas accompagné d'une augmentation de la teneur en N des limbes, il entrave les pertes d'N des tissus.

Cette action est liée directement à l'exposition à la lumière pendant la période diurne (le liquide de Knop est sans effet, ou presque, sur les limbes à l'obscurité).

Son retentissement sur la respiration, qui ne peut être qu'indirect, sera étudié avec celui qu'entraînent les variations protidiques.

(1) La faiblesse de la teneur en glucides s'accompagne d'une faible absorption des sels ammoniacaux (ARENZ B., 1941 *a*, *b* et *c*).

3^o *Les variations glucidiques.*

Bien que la teneur des limbes en glucides soit plus faible que la normale, en raison du traitement préalable et de l'exposition à la lumière diffuse, ceux-ci sont toujours présents en quantités telles qu'à aucun moment et pour aucune série il ne peut être question de véritable carence glucidique.

Le taux des glucides est entretenu par la photosynthèse, et les pertes d'origine respiratoire sont compensées, en partie au moins, par les gains diurnes.

Ces variations appellent plusieurs remarques :

Initialement, la teneur en glucides des limbes non carencés en N est toujours plus élevée que celle des limbes carencés. La différence est surtout sensible avec les limbes de Blé, dont le stock de glucides insolubles métabolisables est très faible ou nul.

Lorsqu'au cours de l'expérience, les teneurs en glucides diminuent (Blé, Haricot d'Espagne), la différence s'accroît encore entre les limbes des séries N et A.

Les limbes des séries R ne perdent proportionnellement pas plus de glucides que les limbes non préalablement carencés. Lorsque les teneurs en glucides s'élèvent (Sarrasin), l'accroissement est plus important pour les limbes non carencés ou même simplement réalimentés en N.

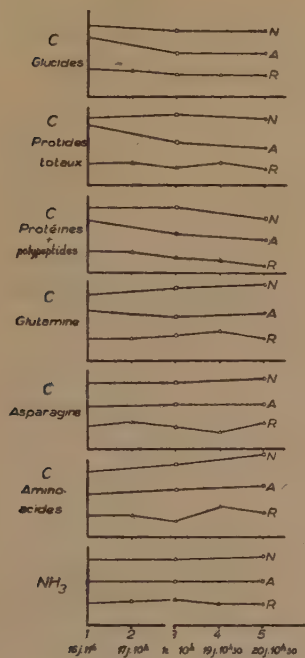
La déficience en N s'accompagne d'un ralentissement de la photosynthèse (si dans le cas présent la lumière est le facteur limitant, l'éclairement est identique pour tous les limbes d'une même expérience).

Ces différences se comprennent aisément en raison des variations de l'N protéique des tissus, dont la diminution de taux plus ou moins forte concerne au moins en partie la trame des chloroplastes (Les limbes carencés de Blé présentaient quelques signes de jaunissement, à la fin de l'expérience V).

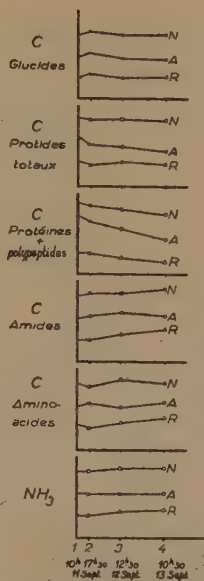
Quoi qu'il en soit, cette série d'expériences se distingue de la précédente (limbes à l'obscurité) par le maintien d'un taux glucidique tel que le métabolisme protidique se déroule dans des conditions physiologiques correspondant à la phase glucidique atténuée ou à la phase protoplasmique, c'est-à-dire pendant une période favorable à l'examen des relations entre le métabolisme azoté, les glucides et la respiration.

4^o Les variations protidiques (Fig. Va, VII a et VIII a).

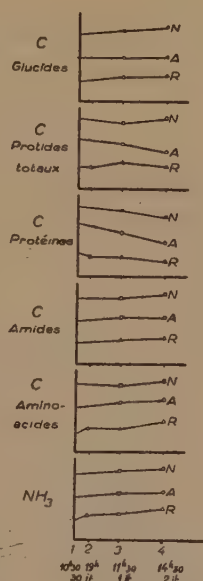
a) *La protéolyse.* La protéolyse a toujours lieu, que les limbes se trouvent sur un milieu nutritif riche en N ou dépourvu de cet élément, qu'ils soient initialement riches ou pauvres en protéines. Elle apparaît bien comme un phénomène continu, immédiatement décelable lorsqu'elle n'est pas compensée par la protéogénèse.



BLÉ V
Fig. Va



HARICOT D'ESPAGNE
Fig. VIIa



SARRASIN
Fig. VIIIa

VARIATIONS DE C GLUCIDIQUE,
PROTIDIQUE ET DE NH₃
(Schémas)

La carence initiale n'est pas sans importance. Les teneurs en protéines et en formes azotées organiques solubles sont plus faibles dans les limbes prélevés sur des plantes carencées en N que dans les autres. La carence est suivie d'un appauvrissement en N sous toutes ses formes dans les feuilles, ainsi que l'ont constaté GREGORY F. G. et SEN P. K. (1937).

La déficience en aliment azoté entraîne également une différence profonde dans la répartition des substances azotées.

La comparaison des rapports de l'N protéique à l'N soluble organique total (Tableau 5) des limbes des différents lots montre qu'au début de l'expérience les rapports sont plus élevés pour les limbes carencés que pour les autres. Il semble donc que la carence s'accompagne de migrations plus intenses des substances azotées des organes adultes vers les zones de croissance. En l'absence d'un aliment compensateur des pertes par migration et d'une protéogenèse active qui maintient le taux protéique, les organes perdent leurs substances azotées solubles au fur et à mesure de la protéolyse.

TABLEAU 5

Rapports		N protéique N soluble organique			
		Exp. V Blé	Exp. VI Blé	Exp. VII Haricot d'Espagne	Exp. VIII Sarrasin
Début	A	2,5	2,7	3,7	5,8
	R				
	N	1,9	1,9	3,2	5,2
Fin	A	1,2	1,6	2,6	3,8
	R	1,4	1,6	2,0	3,5
	N	1,2	1,9	2,3	4,1

Ces rapports sont généralement faibles, fait en relation avec le séjour des limbes à la lumière diffuse (cf. COMBES R. BRUNEL A. et CHABERT A., 1942).

Les rapports diminuent au cours du temps, par suite de la protéolyse. Ils tendent à s'égaliser dans chaque expérience, la lyse étant beaucoup plus rapide pour les limbes carencés, et l'oxydation protidique étant plus lente qu'elle (La protéolyse intense n'est pas spécifique de la carence en N, la carence en K l'entraîne également (RICHARDS F. J. et TEMPLEMAN W. G., 1936).

L'alimentation continue en N (lots N), l'apport secondaire de sel ammoniacal (lots R) la retardent.

Si le gain de substances azotées est insignifiant, même s'il apparaît nul, *la présence d'un sel nutritif ammoniacal retarde la dégradation protéique.*

Si peu favorable qu'il soit à l'alimentation azotée des feuilles adultes, l'ion ammonium est un des facteurs qui maintiennent

le taux protéique à son niveau, soit qu'il permette l'entretien d'un mécanisme synthétique, soit qu'il ralentisse les processus d'oxydation protidique ainsi qu'il est exposé plus loin, et que de proche en proche, par action de masse, les protéines se trouvent stabilisées.

Ce fait est à rapprocher des observations de PRIANISCHNIKOV D. (1924 a) qui a constaté que les sels d'Ammonium d'acides forts, même en l'absence de substances tampons, retardent la protéolyse des plantules étiolées de *Pisum sativum* et de *Vicia sativa*.

Il est certain que la protéolyse atteint les protéines des chloroplastes, et dès le début.

En plus des arguments développés au cours de la discussion des expériences précédentes, il faut ajouter le ralentissement de la photosynthèse à la suite de la carence en N, c'est-à-dire lorsque la protéolyse est la plus forte.

Ce ne sont certainement pas les seules protéines hydrolysées, même lorsque la protéolyse est faible : les feuilles des lots N et R conservent une faculté photosynthétique qui ne décroît pas avec le temps, même quand la lyse est importante. Il est cependant possible que dans les conditions d'éclairement réalisées, la lumière ait joué le rôle de facteur limitant, ce qui expliquerait également cette constance.

Ces résultats sont également en complet accord avec ceux de CHIBNALL A. C. et GROVER C. E. (1926) et de JORDAN R. C. et CHIBNALL A. C. (1933), qui révèlent une perte simultanée des protéines « cytoplasmiques » et « chloroplastiques » dans les feuilles de *Phaseolus multiflorus* conservées sur milieu liquide.

b) *L'oxydation protidique.* — L'oxydation protidique et la perte d'N organique qui en résulte, peuvent débiter tôt, même si la teneur en glucides est importante, ainsi que le souligne la perte en N organique des limbes des lots A.

Cette perte est la conséquence de la protéolyse qui accroît la teneur en principes carbonés solubles oxydables.

Elle n'est sensible qu'en carence, l'apport ammoniacal aux limbes carencés l'inhibe.

Il est difficile d'imaginer que l'Ammonium ne fait que retarder par action de masse une désamination des amino-acides, désamination qui précéderait l'oxydation de leur chaîne carbonée.

En effet, la teneur en NH_3 des limbes reste toujours très faible et sensiblement constante.

Il est infiniment plus probable que l'apport alimentaire assure une synthèse continue de formes azotées organiques solubles, compensant les pertes.

Une telle synthèse, très faible il est vrai, s'observe dans le cas du Blé, elle concerne des amino-acides et des amides (MOYSE A., 1949). La synthèse des amides à partir de NH_3 fournie comme aliment a été constatée par PRIANISCHNIKOV D. (1924 b) dans des cultures de plantules de Pois, de Maïs, de Vesce, de *Cucurbita Pepo*.

La synthèse des amides ne se trouve réalisée que dans les limbes de Blé ou de Haricot (plantes « amides »), soit au dépens de l' NH_3 externe, soit aux dépens de l' NH_3 des amino-acides oxydés.

Elle n'est pas réalisée dans les limbes de Sarrasin qui, à ce sujet, s'opposent aux précédents (plante du type « ammonium »).

c) *La protidogenèse.* — La protidogenèse est insignifiante ou nulle, ne masquant jamais la protéolyse. Même si une synthèse protidique intervient, elle ne s'étend pas au delà de la formation de substances azotées solubles. Il n'y a pas de relation du type de la loi d'action de masse entre les teneurs en protéines et les teneurs en substances azotées solubles, ainsi que l'ont précisé PETRIE A. H. K. et WOOD J. G. (1938 b).

d) *Le problème des nitrates.* — PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C., (1937) ont mis en évidence une véritable synthèse des nitrates par oxydation de substances azotées hydrogénées, dans des feuilles de Narcisse flottant sur une solution nutritive ammoniacale.

Leur observation, qui confirme celles de VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1933), à propos des transformations azotées subies par les feuilles de Tabac abandonnées à l'obscurité, et celles de Mac KEE H. S et LOBB D. E. (1938), sur les feuilles de Tomate et de Bette également placées à l'obscurité, établirait l'existence d'un processus d'oxydation de l'Azote, inverse de la réduction habituellement constatée au cours des synthèses.

Les variations de l'ion NO_3^- , constatées dans les expériences présentes, sont trop faibles, pour que l'on puisse y reconnaître la manifestation d'un tel processus.

Les teneurs en ions NO_3^- étant également très minimes, il n'y a pas lieu d'envisager leur effet sur le métabolisme respiratoire.

5°) *Les variations de l'ion oxalique.* — Que les teneurs en oxalates soient faibles (Blé) ou élevées (Sarrasin), leurs variations sont peu importantes.

Les limbes carencés présentent généralement un accroissement du taux oxalique qui traduit l'existence d'oxydations incomplètes comparables à celles que MOLLIARD M. a signalé dans les cultures de *Sterigmatocystis nigra* (1922 a) et dans celles de l'Oseille (1922 b) carencées en aliment azoté.

6° *Les échanges gazeux respiratoires et le métabolisme azoté.*

a) *Les Intensités respiratoires* (Fig. Vb, VIb, VIIb, et VIII b). — Au début des expériences, les mesures des échanges gazeux soulignent la dépendance qui existe entre l'I. R. et la teneur en glucides des limbes (Tableau 6).

TABLEAU 6

	Expériences	I. R. cm^3 de CO_2 émis par g. P.S. et par h.	Glucides totaux % P.S.	N protéique % P.S.
Blé V	N_1	1,46	5,46	2,67
	$\text{A}_1 = \text{R}_1$	1,03	4,45	2,86
Blé VI	N_1	1,23	5,54	2,94
	$\text{A}_1 = \text{R}_1$	1,16	3,57	2,91
Haricot d'Espagne .. VII	N_1	1,26	4,17	3,44
	$\text{A}_1 = \text{R}_1$	1,13	4,24	3,33
Sarrasin VIII	N_1	1,42	2,72	3,68
	$\text{A}_1 = \text{R}_1$	1,26	2,24	3,60

Dans chacune d'elles (sauf dans le cas du Haricot d'Espagne), l'I. R. est plus élevée pour les limbes des lots N plus riches en glucides.

Avec l'appauvrissement glucidique, la proportionnalité entre l'I. R. et la teneur en protéines se manifeste (Tableau 7).

Elle semble réalisée très rapidement (dès le début de l'expérience, pour le Haricot d'Espagne), quoique l'I. R. calculée sur la base de

la teneur en protéines s'élève généralement en fin d'expérience, avec l'augmentation de la teneur en substances solubles azotées oxydables.

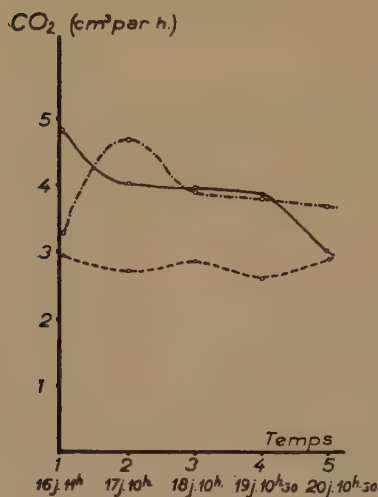


Fig. Vb: BLÉ V (100 limbes)

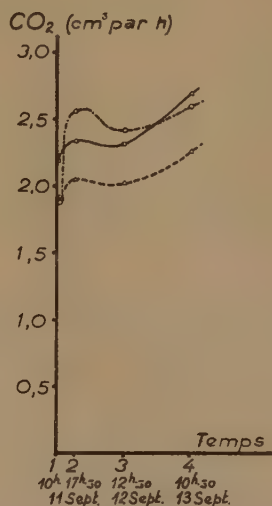
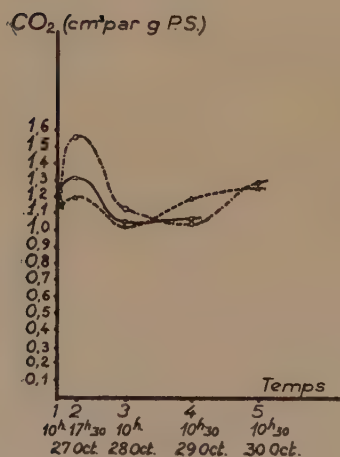
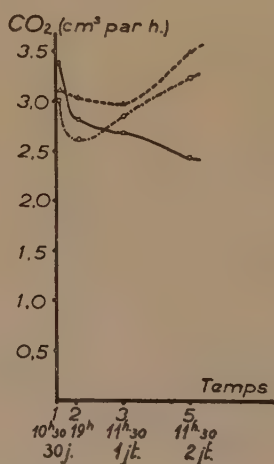
Fig. VIIb: HARICOT D'ESPAGNE
(15 limbes)

Fig. VIb: BLÉ VI

Fig. VIIIb: SARRASIN
(20 limbes)

INTENSITÉS RESPIRATOIRES

Lots N ——— Lots A - - - - - Lots R ———

Dans les limbes pauvres en glucides et qui ont perdu une partie de leurs protéines chloroplastiques, les protéines cytoplasmiques paraissent régler l'intensité des oxydations. Cette corrélation est semblable à celle que WOOD J. G. (1941) a signalée à propos des feuilles d'*Andropogon sudanensis* analysées au cours de leur développement.

TABLEAU 7

I. R. exprimée en cm³ de CO₂ émis par heure, par rapport à N protéique en mg.

		1	2	3	4	5
Blé V	N	0,055		0,046		0,045
	A	0,036		0,042		0,052
	R	»	0,055	0,051	0,052	0,053
Blé VI	N	0,041	0,045		0,042	
	A	0,040	0,041		0,049	
	R	»	0,053	0,040	0,040	0,057
Haricot d'Espagne VII	N	0,037	0,041	0,041	0,051	
	A	0,034	0,040	0,041	0,047	
	R	»	0,046	0,048	0,057	
Sarrasin VIII .	N	0,038		0,032	0,030	
	A	0,035		0,036	0,045	
	R	»	0,031	0,032	0,041	

L'I. R. des limbes carencés en N est plus faible que celle des limbes non carencés, en accord avec les observations de GREGORY F. G. et SEN P. K. (1937), à propos des limbes d'Orge prélevés sur des plantes ayant subi une carence plus ou moins importante.

L'I. R. plus élevée des limbes de Blé et de Haricot d'Espagne non carencés, ou réalimentés en N, traduit la relation qui existe entre l'intégrité protoplasmique et la respiration.

La diminution de la teneur en protéines par protéolyse s'accompagne d'un ralentissement du rythme des oxydations dans tous les cas, pour les limbes de ces deux espèces.

Avec les limbes de Sarrasin, dont les protéines sont très peu hydrolysées, ce ralentissement ne se manifeste pas. D'autres facteurs doivent intervenir, la présence d'acides organiques abondants peut-être, qui accélèrent les oxydations des limbes carencés.

L'apport d'aliment azoté aux limbes carencés de Blé et de Haricot

d'Espagne provoque une brusque augmentation des oxydations respiratoires (MOYSE A., 1948), de sorte que leur I. R. dépasse rapidement celle des limbes non carencés. Cet accroissement dure peu, l'I. R. revenant ensuite au même niveau que celle des limbes des lots N.

Le ralentissement de la protéolyse, la reprise active de la photosynthèse, sont des facteurs insuffisants pour expliquer ce choc.

Il est possible d'y reconnaître la trace de l'oxydation de corps intermédiaires du métabolisme respiratoire, provenant de combustions incomplètes effectuées pendant la période de carence.

Ce phénomène serait comparable aux « oxydations complémentaires » de la fermentation propre, mises en évidence par PLANTEFOL L. (1935, 1944), d'abord avec des Levures, puis avec divers matériels végétaux (*Hypnum triquetrum*, feuilles de Cresson, de Sycomore, etc.), qui, après avoir séjourné en anaérobiose et subi une fermentation propre, sont transportés à l'air. L'I. R. croît brusquement, par suite d'une oxydation rapide de métabolites accumulés en anaérobiose et aisément oxydables, puis elle revient à la valeur normale des tissus en aérobiose.

Après l'apport d'aliment azoté, comme après l'apport d'Oxygène, le retour aux conditions physiologiques les plus favorables s'accompagnerait d'une combustion des métabolites issus d'oxydations incomplètes effectuées antérieurement.

L'I. R. exprimée par rapport à l'N des amino-acides (Tableau 8) révèle une corrélation directe entre le rythme des oxydations et la teneur des tissus en acides aminés. La légère élévation d'I. R., observée en fin d'expérience (Blé VI, Haricot d'Espagne), peut être liée à l'afflux de métabolites d'origine protidique.

De même, après une protéolyse intense, RICHARDS F. J. et TEMPLEMAN W. G. (1936) ont observé un accroissement de l'I. R. exprimée sur cette base, avec des feuilles d'Orge carencées en Potassium.

Cette expression souligne que l'augmentation de l'I. R. des limbes du lot R, après leur transfert sur le milieu nutritif azoté, est indépendante de la teneur en amino-acides.

TABLEAU 8

I. R. exprimée en cm³ de CO₂ émis par heure, par rapport à N
des amino-acides en mg.

		1	2	3	4	5
Blé V	N	0,17		0,13		0,08
	A	0,12		0,10		0,09
	R	»	0,18	0,13	0,11	0,11
Blé VI	N	0,11	0,14		0,17	
	A	0,17	0,20		0,15	
	R	»	0,19	0,17	0,16	0,15
Haricot d'Es- pagne VII	N	0,18	0,20	0,18	0,21	
	A	0,20	0,20	0,20	0,18	
	R	»	0,31	0,20	0,30	
Sarrasin VIII .	N	0,23		0,19	0,15	
	A	0,21		0,19	0,18	
	R	»	0,16	0,16	0,18	

b) *Les Quotients respiratoires* (Fig. Vc, VIc, VIIc, VIIIc). Si les Q. R. des limbes prélevés sur les plantes carencées peuvent être plus élevés (Blé, Sarrasin) ou plus faibles (Haricot d'Espagne) que ceux des autres limbes, l'oxydation protidique entraîne une diminution toujours sensible de ces rapports, sauf pendant une longue période pour les limbes de Blé des lots R (exp. V).

Même s'il n'y a pas perte d'N organique, la chute de Q. R. peut se manifester. Elle est alors liée à la conversion d'acides aminés en amides, qui entraîne une diminution de la teneur en Carbone protidique et une fixation supplémentaire d'O₂.

L'apport d'aliment azoté aux limbes carencés (lots R) est suivi d'une élévation du Q. R. ; c'est la conséquence du ralentissement des oxydations protidiques et de la consommation plus active des glucides, dont le taux s'élève, par suite de l'activité photosynthétique plus intense. On peut ajouter à ces facteurs, pour les limbes de Blé, une légère synthèse d'amino-acides, une disparition d'amides (Exp. V, R₄) et l'oxydation de corps à Quotient de combustion élevé formés au cours de la carence.

Les mesures de l'expérience VI, faites avec des limbes de Blé non préalablement détachées des tiges, mettent en évidence des variations comparables à celles présentées par les limbes de Blé détachés (Exp. V).

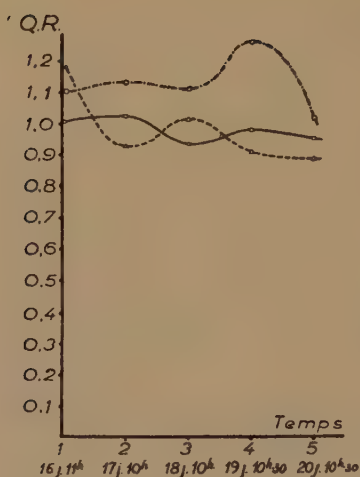


Fig. Vc: BLÉ V

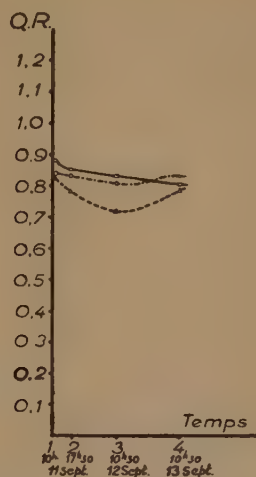


Fig. VIIc: HARICOT D'ESPAGNE

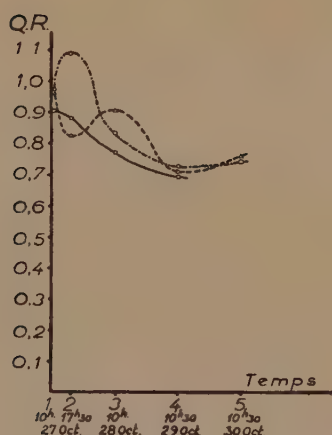


Fig. VIc: BLÉ VI

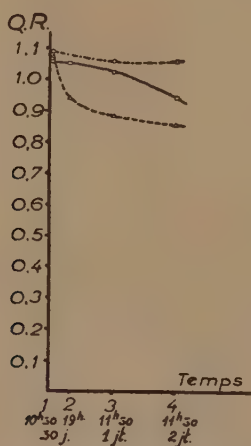


Fig. VIIIc: SARRASIN

QUOTIENTS RESPIRATOIRES

Lots No—○— Lots A—●— Lots R—○—

Cette expérience permet de conclure à la validité des relations constatées entre le métabolisme azoté, le métabolisme glucidique et les échanges gazeux respiratoires des feuilles détachées, dans la physiologie normale des feuilles.

C. Les relations entre les échanges gazeux respiratoires et le métabolisme protidique des limbes riches en glucides

1. Partie expérimentale.

Expérience IX : Limbes de blé.

Les limbes de Blé utilisés proviennent de plantes issues de graines semées le 26 avril 1948. Les pieds sont arrachés le 11 juin, âgés de 46 jours. Ils possèdent 6 feuilles, la 6^e au limbe non entièrement déroulé.

Toutes les feuilles, sauf la 6^e, sont enlevées, pour éviter la migration de substances des feuilles âgées vers les plus jeunes (cf. MASON T. G. et PHILLIS E., 1934).

Une partie des plantes est placée sur le milieu N (lots N), l'autre sur le milieu A (lots A et R) précédemment définis.

Les feuilles n° 6 ne peuvent recevoir de l'N que par migration de substances azotées venant des tiges ou des racines (COMBES R., 1927), ou par absorption de l' NH_3 .

Ce traitement a duré 4 jours, les bacs laissés dans le jardin, bien exposés, par des journées ensoleillées.

Le 15 au matin, les limbes des feuilles n° 6, de 20 ± 1 cm. de longueur, sont cueillis. La section est faite au-dessous de la ligule.

Les limbes sont lavés, puis replacés sur les milieux N ou A selon leur origine.

Les prélèvements sont faits pour l'étalonnage respiratoire et les premières analyses.

Puis les limbes des lots N, R et A sont transportés sur les milieux liquides nutritifs suivants stérilisés, et *flottent* la face ventrale contre la surface liquide.

Milieu N' (Lots N et R)		Milieu A' (Lots A)	
$\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$	2,5	SO_4Na_2	2,68
$(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2$	3	$(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2$	3
Glucose	30	Glucose	30
H_2O	1.000	H_2O	1.000

Les liquides sont renouvelés chaque jour. Leurs pH sont :

	Milieu N'	Milieu A'
Au début	6,6	6,6
Après 24 h.	6,6	6,5-6,6

Le séjour à l'obscurité, en atmosphère confinée, des lots destinés à l'analyse des échanges gazeux respiratoires, est de 2 heures à la température de 22°5 - 23° C.

Les analyses sont faites à l'aide de l'eudiomètre de précision, sur la totalité des gaz après extraction.

Les limbes sont soigneusement lavés avant les analyses des échanges gazeux, afin d'éviter la réalisation d'oxydations extrinsèques.

Les limbes soumis aux autres analyses subissent le même traitement.

Des analyses sont également faites avec des limbes témoins laissés sur pied en pleine terre, au début et à la fin de l'expérience.

L'expérience dure 70 heures.

Sa conduite est la même que celles des expériences V, VII et VIII.

Résultats.

Lots N:

1° Poids de substance fraîche et de substance sèche.

Teneur en eau (Tableau IX A).

Le poids de substance fraîche diminue de 19 % pendant les 70 heures. La teneur en eau diminue davantage encore (26 %), de sorte que le poids de substance sèche augmente de 22 % de sa valeur initiale.

2° Echanges gazeux respiratoires (Tableaux IX B et IX F).

L'I. R. s'élève fortement au cours du séjour sur le milieu glucosé. Elle triple en 18 h. et quadruple à la fin de l'expérience.

Le Q. R. reste voisin de l'unité, avec une élévation passagère après le transfert sur le milieu glucosé.

3° Variations des teneurs en différentes formes azotées (Tableaux IX C et IX G).

1. *N protéique* diminue de 16% de sa valeur initiale. La protéolyse n'est pas inhibée, ni par la présence de glucose, ni par celle de l' NH_3 .

2. *N organique soluble* augmente d'une quantité qui dépasse de

beaucoup celle qui provient de la protéolyse, de sorte que l'*N organique total* total croît de 13 %.

3. *N des amides instables* (glutamine) augmente considérablement. La protéolyse est insuffisante pour justifier cette augmentation (Tableau IX D). En plus de la quantité de glutamine libérée directement par la protéolyse et de celle qui peut provenir de la conversion de l'acide glutamique de même origine, il existe une néoformation à partir de l' NH_3 alimentaire et de chaînons carbonés dont la source peut être glucidique.

4. *N des amides stables* (asparagine) reste constant pendant 48 heures et n'augmente qu'en fin d'expérience.

Cette augmentation dépasse cependant celle qui trouve son origine dans la protéolyse. Une néoformation tardive d'asparagine intervient (Tableau IX D).

5. *N des amino-acides* augmente après le transfert sur le milieu glucosé. Cette augmentation dépasse la quantité d'*N* soluble organique libéré par la protéolyse. Cette synthèse d'amino-acides dont les chaînons carbonés sont d'origine glucidique ne se poursuit pas. Après une quarantaine d'heures elle cesse et la désamination l'emporte, seules les amides continuent à se former.

6. *N polypeptidique* augmente également, mais plus faiblement. Rien n'indique qu'une condensation des amino-acides ait lieu.

7. *N ammoniacal* augmente (quadruple) pendant toute la durée de l'expérience.

8. *N nitrique* diminue et tend même à disparaître en fin d'expérience.

9. *N total* augmente pendant les 70 heures, de 20 %.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° une augmentation de la teneur en *N* total due presque uniquement à celle de l'*N organique* ;

2° une protéolyse que la présence de glucose n'a même pas ralentie ;

3° une formation d'amino-acides qui dépasse la quantité de ces corps provenant de la protéolyse pendant les 20 ou 30 premières heures. Pendant cette période la somme : *N* protéique + *N* polypeptidique + *N* des Amino-acides, augmente légèrement, des amino-

acides prenant naissance aux dépens de NH_3 et des chaînons carbonés issus des glucides (Tableau IX E) ;

4° une synthèse beaucoup plus considérable d'amides, surtout après 30 heures. C'est la glutamine qui se forme d'abord, la genèse de l'asparagine est nettement plus tardive. La formation de chacune de ces amides ne correspond donc pas nécessairement à un mécanisme physiologique identique, même si leur genèse peut être considérée comme chimiquement comparable.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableaux IX C et IX G).

La teneur en glucides totaux, beaucoup plus élevée à l'origine que celle des limbes utilisés dans les précédentes expériences, augmente fortement pendant les 70 heures (179 %).

L'absorption de glucose est donc très importante (la photosynthèse est certainement très faible dans ces feuilles flottant sur liquide nutritif).

L'augmentation des glucides insolubles est très minime ou nulle. Il en est de même de celle des glucides réducteurs libres. Mais la teneur en glucides solubles non réducteurs (saccharose) s'accroît considérablement (246 %). Elle représente 89 % de la teneur en glucides totaux après 70 h. contre 71 % au début de l'expérience. L'absorption du glucose est suivie d'une condensation en holosides telle que la teneur en glucides réducteurs reste constante.

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau IX C).

La teneur en acide oxalique reste très faible pendant la durée de l'expérience. Ses variations peuvent être considérées comme négligeables.

L'absorption de glucose compense les pertes respiratoires et enrichit les limbes en glucides non réducteurs.

L'accroissement de l'I. R. qui suit cette absorption lui est directement lié (il ne dépend pas des protéines dont la teneur diminue légèrement).

Au début de l'expérience, la synthèse d'acides-amino de Quotient de combustion bas (Tableau IX E) (0,7- 0,8) s'accompagne d'une augmentation du Q. R. (Les chaînons carbonés ne peuvent provenir que des glucides).

La synthèse ultérieure de glutamine, au Quotient de combustion peu différent de 1 (1,11), n'est pas accompagnée d'une variation sensible du Q. R. qui retrouve une valeur voisine de l'unité. Il en est de même lors de la légère augmentation finale de la teneur en asparagine.

Lots A :

(Les limbes des Lots A
présentent un début de jaunissement après 70 h.)

1^o *Poids de substance fraîche et de substance sèche.*
Teneur en eau (Tableau IX A).

Le poids de substance fraîche diminue de 15 %, la teneur en eau de 21 %. Le poids de substance sèche, inversement, augmente de 24 %.

L'augmentation du poids de la substance sèche est du même ordre de grandeur que celle des limbes des lots N, et les variations de teneur en eau similaires.

2^o *Echanges gazeux respiratoires (Tableau IX B et IX F).*

L'I. R. s'élève après le séjour sur le milieu glucosé, elle triple en 18 h., comme celle des limbes du lot N, mais diminue ensuite légèrement. Après 70 h., elle est encore de beaucoup supérieure à sa valeur initiale (255 %).

Le Q. R. présente peu de variations. Il reste très voisin de l'unité et diminue seulement quelque peu après 40 h.

3^o *Variations des teneurs en différentes formes azotées*
(Tableaux IX C et IX G).

1. *N protéique* décroît considérablement (perte 41 % après 70 h.). La diminution de l'*N protéique* est plus importante pendant les premières heures qui suivent le détachement des limbes qu'à la fin de l'expérience.

2. *N organique soluble* se maintient constant pendant les 70 h. Il en résulte que l'*N organique total* subit une perte de 29 %. La perte est plus rapide au début qu'à la fin de l'expérience. Elle traduit une oxydation sensible des chaînons carbonés protidiques, en même temps qu'une désamination.

3. *N des amides instables* (glutamine) reste stationnaire. Il n'y a pas de néoformation de glutamine (Tableau IX D). Celle qui provient de la protéolyse disparaît au fur et à mesure de sa formation.

4. *N des amides stables* (asparagine), en très faible quantité, ne présente aucune variation importante. L'asparagine suit le même sort que la glutamine.

5. *N des amino-acides* augmente très légèrement et cette augmentation trouve naturellement son origine dans la protéolyse.

6. *N polypeptidique* augmente, il double en 70 h.

7. *N ammoniacal* reste constant malgré la désamination.

8. *N nitrrique*, en très faible quantité, augmente légèrement en fin d'expérience.

9. *N total* diminue (perte 26 %), probablement par migration de substances azotées solubles vers la base des organes et dans le milieu de culture.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° une protéolyse que la présence de glucose n'a pas ralentie. Elle est même plus forte que celle subie par les limbes de l'expérience V ;

2° une désamination et une migration aussi rapides, sans formation d'amides (Tableau IX E) ;

3° l'ensemble de ces transformations et migrations se solde par une perte d'N organique égale à la quantité d'N soluble organique formé au cours de la protéolyse.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableau IX C et IX G).

La teneur en glucides totaux, beaucoup plus faible à l'origine que celle des limbes des lots N, augmente de 376 %, plus par conséquent que celle des limbes des lots N. Peut-être est-ce dû à une moindre résistance des membranes et pellicules cytoplasmiques à la pénétration comme à la sortie des substances solubles, liée à une augmentation de la perméabilité cellulaire en carence d'Azote, consécutive à la dégradation plus rapide des protéines.

L'augmentation de la teneur en glucides insolubles et en glucides solubles réducteurs est très faible, comme dans les limbes des lots N.

Par contre, la conversion du glucose en holosides non réducteurs est considérable et l'augmentation de leur teneur plus forte, en relation avec la pénétration plus importante de glucose.

La protéolyse n'a pas affaibli la faculté de condensation du glucose en holosides du type du saccharose.

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau IX C).

La teneur en acide oxalique est trop faible pendant toute la durée de l'expérience, pour que l'on puisse en déduire une action du glucose absorbé sur ses variations.

Ainsi que dans la série précédente (lots N), l'absorption de glucose compense les pertes glucidiques par oxydations respiratoires et provoque un accroissement de la teneur des limbes en glucides non réducteurs.

L'accroissement de l'I. R. qui suit cette absorption lui est directement lié, puisque la teneur en protéines diminue et que le Q. R. reste très voisin de l'unité.

La diminution du Q. R., normalement attendue en relation avec l'oxydation protidique, est partiellement masquée par l'oxydation des glucides.

Après une quarantaine d'heures, l'I. R. décroît, vraisemblablement à la suite de la diminution importante de la teneur en protéines.

Lots R :

1° *Poids de substance fraîche et de substance sèche.*

Teneur en eau (Tableau IX A).

Le poids de substance fraîche diminue de 19 %, alors que la teneur en eau décroît de 27 %. Le poids de substance sèche augmente de 23 %. Ces variations sont très voisines de celles que présentent les limbes des lots N.

2° *Echanges gazeux respiratoires* (Tableaux IXB et IX F).

L'I. R., égale à l'origine à celles des limbes des lots N et A, croît après le transport sur la solution glucosée et triple en 18 heures. Elle reste stationnaire ensuite, puis s'élève à nouveau et atteint le quadruple après 70 heures.

Le Q. R. augmente également après le transfert, puis diminue

par la suite, tout en restant légèrement supérieur à l'unité. Ces variations sont comparables en tout point à celles que révèlent les limbes des lots N.

3° Variations des teneurs en différentes formes azotées

(Tableaux IX C et IX G).

1. *N protéique* diminue de 20 % après 70 heures. Cette perte est régulière et moins élevée que celle subie par les limbes des lots A.

2. *N organique soluble* augmente et cet accroissement, surtout sensible immédiatement après le transport sur le milieu glucosé, dépasse celui qui est attendu d'après la protéolyse. L'N organique total se trouve accru de 22 %, proportion voisine de celle trouvée avec les limbes des lots N.

3. *N des amides instables* (glutamine) augmente très fortement et la protéolyse n'est pas seule en cause, une néoformation de glutamine intervient à partir de NH_3 du milieu de culture et de chaînons carbonés probablement d'origine glucidique (Tableau IX D).

4. *N des amides stables* (asparagine) augmente également après le transfert, mais reste constant ensuite et en quantité beaucoup plus faible que l'N des amides instables. La néoformation d'asparagine est peu importante (Tableau IX D).

5. *N des amino-acides* croît surtout après le transfert sur solution glucosée, se maintient constant ensuite et diminue en fin d'expérience, au moment du plus fort accroissement de la teneur en glutamine. Ses variations sont comparables à celles présentées par les limbes des lots N.

6. *N polypeptidique* augmente pendant toute la durée de l'expérience, mais d'une quantité moindre que l'N organique soluble.

7. *N ammoniacal* augmente régulièrement par absorption de NH_3 externe non assimilée.

8. *N nitrrique*, en très faible quantité, ne présente aucune variation significative.

9. *N total* augmente de 29 % par absorption de NH_3 suivie de synthèse de substances azotées organiques solubles.

Les variations des différentes formes azotées mettent en évidence les phénomènes suivants :

1° un accroissement de l'N total presque uniquement dû à celui de l'N organique ;

2° une protéolyse ralentie non par l'apport glucidique, mais par l'absorption de NH_3 (Tableau IX E) ;

3° une synthèse d'amino-acides immédiatement après le transfert sur la solution glucosée ;

Pendant les vingt premières heures, la somme : N protéique + N polypeptidique + N des amino-acides s'élève ;

4° une synthèse plus importante encore d'amides, notamment de glutamine, dès le début du séjour sur la solution glucosée.

En fin d'expérience, seule la formation d'amides subsiste, les amino-acides disparaissent en partie à leur profit. Ces variations sont très voisines de celles présentées par les limbes des lots N.

4° *Variations du contingent glucidique* (Tableaux IX C et IX G).

La teneur en glucides totaux croît comme celle des limbes des lots N et A. Elle double après 18 heures et continue à augmenter jusqu'à quadrupler après 70 heures. Elle n'atteint cependant pas celle des limbes des lots A. L'intégrité du protoplasme est partiellement maintenue en raison de la faible protéolyse et la pénétration du glucose se trouve ralentie.

Les augmentations des teneurs en glucides insolubles et en glucides solubles réducteurs sont faibles. La teneur en holosides non réducteurs présente l'accroissement le plus sensible. La condensation du glucose en holosides solubles (saccharose) est le phénomène le plus important de ceux qui affectent la teneur en glucides.

5° *Variations de l'ion oxalique* (Tableau IX C).

La teneur en ion oxalique est faible et ses variations peu importantes.

L'absorption du glucose, comme dans les cas précédents, compense les pertes respiratoires et provoque l'enrichissement des limbes en glucides solubles non réducteurs.

L'I. R. augmente corrélativement et se maintient élevée, les protéines étant peu dégradées.

Au début du séjour sur solution glucosée, la synthèse d'amino-acides empruntant leur Carbone aux glucides (Tableau IX E) est accompagnée d'une augmentation du Q. R.

La synthèse de glutamine ou la conversion des amino-acides en amides affectent peu le Q. R., l'oxydation glucidique étant pré-

pondérante et déterminant pour la plus grande part le rythme respiratoire.

**2. Comparaison entre les variations présentées
par les limbes détachés et celles des limbes témoins
restés sur les plantes**

Cette comparaison ne peut se faire avec exactitude qu'entre les teneurs des substances étudiées exprimées par rapport au poids de substance sèche (Tableaux IX F et IX G).

1^a Teneur en eau (Tableau IX G).

La teneur en eau des limbes témoins prélevés au début (T_2) et à la fin de l'expérience (T_3) est restée constante. Elle est moins élevée que la teneur en eau des limbes des lots N, A et R, détachés après le séjour des plantes sur les milieux nutritifs liquides N et A. Ce séjour provoque une absorption d'eau importante et sa teneur est accrue de $1/5$ environ dans tous les cas.

2^o Echanges gazeux respiratoires (Tableau IX F).

L'I. R. des limbes témoins décroît avec l'âge.

A l'origine, l'I. R. des limbes détachés, des lots N, A et R, est plus faible que celle des témoins T_1 et T_2 , et voisine de celle des limbes témoins T_3 .

Le Q. R. des limbes T_1 est très élevé. Il correspond à une période de protéogenèse active.

Les Q. R. des témoins T_2 , T_3 et des limbes des lots N et R sont tous voisins de 1, légèrement supérieurs même, et correspondent également à une période de protéogenèse.

En fin d'expérience, l'I. R. des limbes des lots N et R est beaucoup plus élevée que celle des limbes témoins T_3 .

Cet accroissement de l'I. R. traduit l'effet de l'apport glucidique sur l'intensité des oxydations cellulaires.

Avec les limbes du lot A, cet effet est nul, l'augmentation des oxydations liée à l'apport glucidique est compensée par une diminution due à la disparition d'une partie importante des protéines.

Les Q. R. sont voisins de 1 dans tous les cas. Si l'intensité des oxydations a pu être fortement accrue, leur nature n'a pas été profondément modifiée, l'oxydation des glucides étant la plus importante.

3° *Teneurs en N. Variations des Protides* (Tableau IX G).

Les teneurs relatives en N total et en N protéique des témoins décroissent avec l'âge.

Les limbes des lots N ont des teneurs en N total et en N protéique très voisines de celles des premiers témoins T₂. Les limbes des lots A et R, prélevés sur des plantes qui ont subi le même traitement de carence azotée, sont appauvris en N total, particulièrement en N protéique.

Ou bien la protéolyse débute avec la carence, ou bien la protéogénèse est ralentie par elle.

Les teneurs en N des amides, N des amino-acides, N polypeptidique, N ammoniacal et N nitrique sont voisines dans tous les cas, au début de l'expérience.

En fin d'expérience, les différences sont toujours beaucoup plus sensibles.

Si les limbes des lots N et R n'ont pas perdu d'N par rapport aux limbes témoins T₃, il n'en est pas de même des limbes des lots A.

Tous les limbes soumis à l'expérimentation, et surtout ces derniers, ont une teneur en N protéique plus faible que les limbes témoins et une teneur en amides beaucoup plus élevée.

4° *Teneurs en glucides* (Tableau IX G).

La teneur en glucides totaux des témoins s'élève avec le temps. Celle des limbes des lots N est plus forte dès l'origine. La photosynthèse a été très active pendant le traitement préparatoire. Celle des limbes portés par les plantes carencées en N est voisine de la teneur glucidique des limbes témoins T₂, la carence en N s'accompagnant d'une réduction de l'activité photosynthétique.

En fin d'expérience, les teneurs en glucides totaux des limbes des lots N, A et R dépassent considérablement celle des limbes témoins T₃.

L'accroissement glucidique est beaucoup plus intense que celui qui peut être dû à la photosynthèse. Il se traduit toujours par une augmentation de la teneur en glucides solubles non réducteurs.

Les phénomènes observés au cours du traitement des limbes des lots N, A et R se situent dans une période pendant laquelle la synthèse glucidique est plus active que la synthèse protidique. Ils concernent des limbes normalement très riches en glucides.

TABLEAU IX A

Limbes de Blé.

**Variations du Poids de substance fraîche (P. F.),
du Poids de substance sèche (P. S.), en mg.,
et de la teneur en eau (H₂O % P. S.) de 15 Limbes n° 6**

Lot N : 15 Limbes *alimentés* en N, provenant de plantes *alimentées* en N.

Lot A : 15 Limbes *carencés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.

Lot R : 15 Limbes *alimentés* en N, provenant de plantes *carencées* en N.

		1 15 juin 15 h.	2 16 juin 11 h.	3 17 juin 12 h.	4 18 juin 12 h.
Lot N	{ P. F.	3.327	2.763	2.554	2.678
	{ P. S.	468	496	515	571
	{ H ₂ O % P. S. .	611	457	396	370
Lot A	{ P. F.	3.355	2.881	2.614	2.868
	{ P. S.	480	521	555	595
	{ H ₂ O % P. S. .	599	453	371	382
Lot R*	{ P. F.	3.208	2.550	2.537	2.569
	{ P. S.	459	497	522	566
	{ H ₂ O % P. S. .	599	413	386	354

* Les nombres correspondent à la moyenne des 2 lots R₁ et R₂ dont les échanges gazeux sont étudiés.
(Les limbes des lots R₁ et R₂ sont alimentés en N le 15 juin à 17 h. 30.)

TABLEAU IX B

Limbes de Blé.

**Variations de l'Intensité respiratoire et du Quotient respiratoire
de 15 Limbes**

I. R. en cm³ de CO₂ émis et cm³ d'O₂ absorbé par heure, T = 22°5-23° C.

		1 15 juin 15 h.	2 16 juin 11 h.	3 17 juin 12 h.	4 18 juin 12 h.
N	{ CO ₂	0,504	1,691	1,551	2,072
	{ O ₂	0,504	1,450	1,506	2,006
	{ Q. R.	1,000	1,166	1,029	1,033
A	{ CO ₂	0,510	1,503	1,296	1,298
	{ O ₂	0,469	1,381	1,313	1,202
	{ Q. R.	1,087	1,088	0,986	1,080
R ₁	{ CO ₂	0,484	1,588	1,480	2,121
	{ O ₂	0,445	1,354	1,359	1,928
	{ Q. R.	1,086	1,173	1,088	1,100
R ₂	{ CO ₂	0,516	1,578	1,328	2,114
	{ O ₂	0,471	1,363	1,195	2,003
	{ Q. R.	1,094	1,157	1,111	1,055

TABLEAU IX C

Limbes de Blé.

Variations des principales formes d'Azote, des Glucides et de l'Ion oxalique

(en mg. pour 15 Limbes n° 6).

	Lots N				Lots A				Lots R			
	1 15 juin 15 h.	2 16 juin 11 h.	3 17 juin 12 h.	4 18 juin 12 h.	1 15 juin 15 h.	2 16 juin 11 h.	3 17 juin 12 h.	4 18 juin 12 h.	1 15 juin 15 h.	2 16 juin 11 h.	3 17 juin 12 h.	4 18 juin 12 h.
N protéique	15,01	14,14	13,05	12,55	14,41	11,13	9,84	8,53	13,78	12,92	12,77	11,07
N organ. sol.	4,67	7,95	9,23	10,66	4,47	4,55	4,66	4,77	4,18	8,69	9,67	10,96
N des Amides instables ...	0,77	2,64	3,58	5,66	1,47	1,00	1,29	1,64	1,40	2,04	3,32	2,28
N des Amides stables	0,78	0,24	0,42	2,33	0,16	0,71	0,22	0,12	0,16	1,51	1,33	1,66
N des Amino-acides	2,45	4,41	4,29	2,07	2,17	2,38	2,37	2,71	2,08	4,45	4,84	2,67
N polypeptid.	0,66	0,96	1,05	1,01	0,52	0,58	0,75	1,18	0,50	0,88	0,82	1,09
N organ. total	19,68	22,09	22,28	23,21	18,78	15,68	14,50	13,30	17,96	21,61	22,44	22,03
N (NH ₃)	0,31	0,66	0,93	1,27	0,32	0,30	0,31	0,29	0,30	0,76	1,16	1,57
N (NO ₃)	0,61	0,06	0,32	0,14	0,03	0,04	0	0,52	0,03	0	0,04	0
N total	20,60	22,81	23,53	24,62	19,13	16,02	14,81	14,11	18,29	22,37	23,64	23,60
Gl. insol.	6,36			9,65	2,35			12,20	2,25	7,65	11,48	14,37
Gl. sol. non réd.	47,78			165,30	36,91			199,38	35,30	55,07	84,09	162,61
Gl. sol. réd.	12,49			11,02	8,54			16,12	8,17	25,84	21,82	17,15
Gl. totaux	66,63			185,97	47,80			227,70	45,72	88,56	117,39	194,13
Ion oxal. (en acide)	0,22			0,17	0,34			0,36	0,28			0,40

TABLEAU IX D

*Limbes de Blé.***Gains ou pertes de l'Azote des Amides**

(en mg. pour 15 Limbes n° 6).

	Lots N			Lots A			Lots R		
	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4
N des Amides instables . . .	+ 1,84	+ 0,97	+ 2,08	- 0,47	+ 0,29	+ 0,35	+ 0,64	+ 1,28	+ 1,96
N Glutamine dér. de l'Ac. glut. (8 % × 2)	+ 0,14	+ 0,18	+ 0,08	+ 0,52	+ 0,20	+ 0,20	+ 0,14	+ 0,02	+ 0,28
Différence d'N de Glutamine	+ 1,70	+ 0,79	+ 2,00		+ 0,09	+ 0,15	+ 0,50	+ 1,26	+ 1,68
N des Amides stables	- 0,54	+ 0,18	+ 1,91	+ 0,55	- 0,49	- 0,10	+ 1,35	- 0,18	+ 0,33
N Asparag. dér. de l'Ac. aspart. (5 % × 2) . . .	+ 0,08	+ 0,10	+ 0,06	+ 0,32	+ 0,12	+ 0,14	+ 0,08	+ 0,02	+ 0,18
Différence d'N d'Asparagine		+ 0,08	+ 1,85	+ 0,23			+ 1,27		+ 0,15
N des Amides dér. des Protéines (5 % × 2)	+ 0,08	+ 0,10	+ 0,06	+ 0,32	+ 0,12	+ 0,14	+ 0,08	+ 0,02	+ 0,18

TABLEAU IX E

*Limbes de Blé.***Bilan de Carbone des Protides**

(en mg. pour 15 Limbes n° 6).

	Lots N			Lots A			Lots R		
	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4	1-2	2-3	3-4
C Protéines. + Polypeptides . .	- 2	- 3	- 2	- 10	- 4	- 3	- 2	- 1	- 4
C Glutamine . .	+ 4	+ 2	+ 5	- 1	+ 1	+ 1	+ 2	+ 3	+ 4
C Asparagine . .	- 1	-	+ 3	+ 1	- 1	-	+ 2	-	+ 1
C Amino-acides	+ 9	-	- 10	+ 1	-	+ 1	+ 10	+ 1	- 10
C d'origine protidique	+ 10	- 1	- 4	- 9	- 4	- 1	+ 12	+ 3	- 9

TABLEAU IX F

*Limbes de Blé.***Intensités et Quotients respiratoires**I. R. en cm³ de CO₂ émis par heure et par g. de substance sèche.

	I. R.			Q. R.		
	12 juin	15 juin	18 juin	12 juin	15 juin	18 juin
T ₁ (15 cm.)	2,644			1,130		
T ₂ (18 cm.)	2,465			1,073		
N (20 cm.)		1,077	3,628		1,000	1,033
A (20 cm.)		1,062	2,181		1,087	1,080
R ₁ (20 cm.)		1,085	3,814		1,086	1,100
R ₂ (20 cm.)		1,093	3,670		1,094	1,055
T ₂ (22 cm.)			2,170			1,093

TABLEAU IX G

*Limbes de Blé.***Variations des Teneurs en différentes formes d'Azote,
en Glucides et en Eau pour 100 de substance sèche**

	T _a	N ₁	A ₁ =R ₁	N ₄	A ₄	R ₄	T ₂
	12 juin 11 h.	15 juin 15 h.	15 juin 15 h.	18 juin 12 h.	18 juin 12 h.	18 juin 12 h.	18 juin 11 h.
N protéique ..	3,60	3,21	3,00	2,20	1,43	1,95	3,19
N organ. sol. ..	0,71	0,99	0,91	1,86	0,80	1,94	0,74
N. des Amides instables.....	0,47	0,16	0,31	0,99	0,28	0,93	0,21
N des Amides stables	0,11	0,17	0,03	0,41	0,02	0,29	0,02
N des Amino- acides	0,11	0,52	0,45	0,36	0,46	0,47	0,45
N polypeptid. .	0,06	0,14	0,11	0,18	0,20	0,19	0,06
N organ. total	4,31	4,20	3,91	4,06	2,23	3,89	3,93
N (NH ₃)	0,08	0,07	0,07	0,22	0,05	0,28	0,04
N (NO ₃ ⁻)	0,01	0,13	0,01	0,03	0,09	0	0,01
N total	4,40	4,40	3,99	4,31	2,37	4,17	3,98
Gl. insol	1,22	1,36	0,49	1,69	2,05	2,54	0,76
Gl. sol. non réd.	4,41	10,21	7,69	28,95	33,51	28,73	6,04
Gl. sol. réd. .	1,05	2,67	1,78	1,93	2,71	3,03	0,66
Gl. totaux	6,68	14,24	9,96	32,57	38,27	34,30	7,46
H ₂ O	521	611	599	370	382	354	513

3. Discussion

Examen comparé des variations de la teneur en eau, des échanges de substances solubles avec le milieu liquide, des teneurs en glucides, en Azote minéral et organique, en ion oxalique, et de leur retentissement sur les échanges gazeux respiratoires.

1° La teneur en eau.

La teneur en eau des limbes, au début des mesures, est plus élevée que celle des témoins prélevés sur des plantes qui sont restées fixées au sol. Cette élévation résulte du traitement initial sur milieu liquide.

Ensuite, que les limbes soient ou non carencés en N, leur teneur en eau décroît fortement après la mise en culture sur les milieux glucosés. Ils subissent une déshydratation partielle liée au fort pouvoir osmotique des liquides externes. La même observation a été faite par WOOD J. G. et PETRIE A. H. K., (1942), à propos de cultures de *Phalaris tuberosa*.

Une perte d'eau de cet ordre (25 % par rapport à la teneur initiale, 16 % par rapport aux témoins T) n'est certainement pas négligeable à propos du métabolisme protidique. Elle peut accélérer la dégradation des protéines (MOTHES K., 1931).

Elle n'est certainement pas sans effet également sur les échanges gazeux respiratoires dont elle peut accroître légèrement l'intensité (DOMIEN F., 1949).

2° Echanges de substances solubles.

Le plus caractéristique des échanges avec le milieu liquide est l'absorption considérable de glucose. Cette absorption de glucide soluble est favorisée par l'exposition diurne à la lumière, ainsi que l'ont établi PHILLIS E. et MASON T. G. (1937) avec des disques de feuilles de Coton flottant sur des solutions de saccharose.

Les échanges d'N sont également importants. La teneur en N total des limbes non carencés (N) et des limbes carencés réalimentés en N (R) s'accroît par absorption de NH_3 .

Inversement, les limbes en carence continue (A) perdent continuellement de l'N. Il existe donc dans les tissus de ces derniers un courant de migration interne-externe d'eau et de substances azotées.

De tels échanges en sens inverse, dans des organes foliaires, sont comparables à ceux que PALMQUIST E. M. (1938) a constatés dans les feuilles de Haricot, à propos de la circulation simultanée et en sens inverse des glucides et du sel de Sodium de la fluorescéine, dans le phloème.

Dans l'expérience présente, les courants de substances glucidiques et azotées minérales ont lieu pour les limbes A dans une direction opposée à celle des migrations les plus fréquentes au cours de la pleine végétation ; les migrations normales se font alors du haut vers le bas des organes en ce qui concerne les glucides, et du bas vers le haut pour ces substances azotées (PHILLIS E. et MASON T. G., 1936).

3° *Les variations glucidiques* (Fig. IX a).

L'accroissement de la teneur en glucides est tel que celle-ci dépasse de beaucoup la teneur normale.

Les glucides totaux des limbes de Blé ne dépassent pas 2,5 % du poids de la substance fraîche (BELVAL H., 1924) soit environ 15 % du poids de la substance sèche, dans les conditions naturelles.

C'est à peu près la teneur en glucides des limbes de la série N au début de l'expérience. Les limbes des séries A et R sont un peu moins riches en glucides (Tableau IX G).

En fin d'expérience, la teneur en glucides dépasse le double de la teneur normale maximum, et ce sont les limbes carencés qui sont les plus riches. L'apport ammoniacal entrave l'absorption du glucose (cf. WOOD J. G. et PETRIE A. H. K., 1942). Les limbes carencés se révèlent les plus aisément pénétrables, offrant une moindre résistance à l'entrée du glucose par suite de la dégradation légère, mais sensible, de leur cytoplasme. Cette absorption est beaucoup plus importante que celle réalisée avec les feuilles de Tabac ou de Rhubarbe cultivées sur solutions glucosées de concentration plus faible (Tabac) ou plus forte (Rhubarbe), à l'obscurité, par VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1937-1939).

L'exposition diurne à la lumière favorise l'absorption des glucides, ainsi que l'ont établi PHILLIS E. et MASON T. G. (1937) avec des disques de feuilles de Coton cultivés sur solution de saccharose.

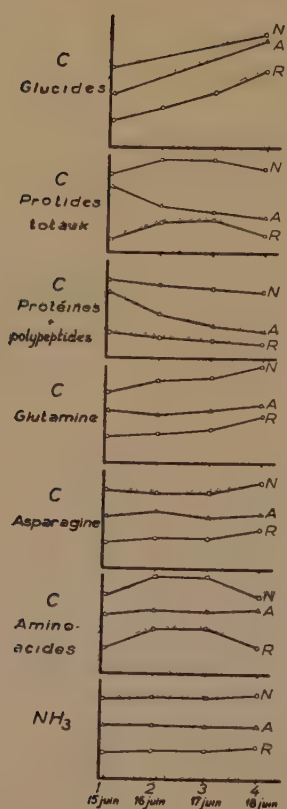
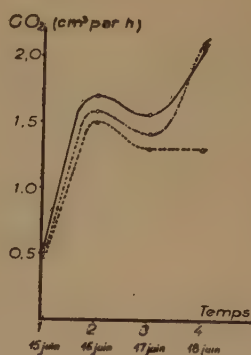
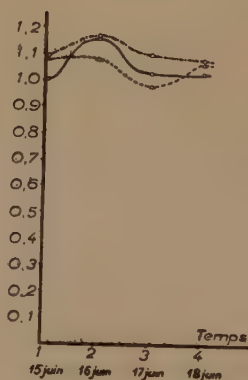


Fig. IXa VARIATIONS DE C GLUCIDIQUE,
PROTIDIQUE ET DE NH_3
(Schémas)



INTENSITÉS RESPIRATOIRES
(5 limbes)
Fig. IXb



QUOTIENTS RESPIRATOIRES
Fig. IXc

Lots N — Lots A — Lots R —

BLÉ - Exp. IX

Il n'y a pas seulement absorption de glucose. Ce glucide est converti en holoside soluble non réducteur (saccharose). Les teneurs en glucides insolubles sont très peu affectées. Ce fait est à rapprocher des polymérisations glucidiques dans les organes végétaux artificiellement enrichis en glucides plus simples : enrichissement des tissus des pétioles et des tubercules du Radis cultivé sur solution glucosée (MOLLIARD M., 1904), des disques foliaires de Coton immergés dans des solutions de saccharose (PHILLIS E.

et MASON T. G., 1937), des feuilles de *Phalaris tuberosa* cultivé sur solution glucosée (WOOD J. G. et PETRIE A. H. K., 1942).

4° Les variations protidiques (Fig. IX a).

L'expérience se situe dans une phase de la végétation caractérisée par une décroissance protéique par rapport au poids de substance sèche des organes (voir la comparaison avec les témoins T₂ et T₃. Tableau IX G.).

a) *La protéolyse*. — Elle n'est pas affectée par l'apport de glucose, si on la compare à celle présentée par les limbes utilisés dans les expériences V et VI (dans la mesure où cette comparaison est légitime, compte tenu des différences d'âge).

Elle se trouve légèrement ralentie pour les limbes N, à peu près identique pour les limbes R, plus forte pour les limbes A.

Cette observation est en accord avec celle de RICHARDS F. J. et TEMPLEMAN W. G. (1936) à propos de feuilles d'Orge plus ou moins riches en glucides.

La carence initiale ne s'accompagne pas, comme dans les expériences précédentes, d'une chute marquée de la teneur en protéines, et le rapport de l'N protéique à l'N organique soluble est égal, que les plantes aient été ou non carencées (N : 3,2. A = R : 3,3).

Les jeunes feuilles sont moins sensibles à la carence azotée que les feuilles âgées.

Les limbes ont pu recevoir des tiges et des racines les substances azotées nécessaires à leur croissance au cours même de la période de carence.

Le rapport $\frac{N \text{ protéique}}{N \text{ soluble}}$ diminue fortement pendant l'expérience, à la fin, il est de : limbes N : 1,2, limbes A : 1,8, limbes R : 1,0.

La protéolyse est donc beaucoup plus rapide que l'oxydation protidique.

L'apport ammoniacal aux limbes carencés en N retarde la protéolyse, de même que le maintien sur solution ammoniacale des limbes non carencés (cf. Exp. V, VI, VII, VIII), mais il n'y a pas de corrélation entre le taux d'N protéique et le taux d'N total exprimés sur la base des poids de substance sèche (Tableau IX G), de même que dans les feuilles de Coton prélevées sur des plantes plus ou moins bien nourries en N (PHILLIS E. et MASON T.G., 1939, 1945).

b) *L'oxydation protidique.* — L'oxydation des protides est importante dans les tissus des limbes carencés en N, pendant toute la durée de l'expérience, elle est également sensible dans les tissus des autres limbes après 40 h.

Dans le premier cas (limbes A), elle se traduit par une perte d'N total organique avec production de NH_3 éliminé et par une conversion en N amidé d'une partie de l'N aminé des amino-acides. Dans les autres cas (limbes N et R), seule la conversion en amides est sensible. Il n'y a pas de perte d'N organique, bien que le taux du Carbone protidique diminue (Tableau IX E).

L'apport ammoniacal aux limbes préalablement carencés (limbes R) *ralentit l'oxydation protidique*, comme il ralentit la protéolyse.

Les teneurs en N nitrique sont toujours faibles et leurs variations insignifiantes.

c) *La protidogenèse.* — Les limbes des lots N et R présentent un accroissement de la teneur en N organique total.

Cet accroissement a deux origines.

1. Une synthèse d' amino-acides dont le taux s'accroît plus que ne le laisserait prévoir la protéolyse.

Cette synthèse est de courte durée, elle n'est sensible que pendant les quelques 40 h. qui succèdent au moment du transfert des limbes sur la solution nutritive glucosée.

2. Une synthèse d'amides, de glutamine d'abord, d'asparagine ensuite. Elle est plus tardive et la synthèse d'asparagine en particulier n'est guère que contemporaine de l'oxydation protidique finale.

La présence de glucides abondants favorise donc la synthèse d'amides. Seule ou à peu près seule, la glutamine peut dériver sans aucun doute des glucides pour son chaînon carboné, et de l' NH_3 externe pour son N.

La synthèse d' amino-acides et la dégradation hydrolytique des protéines peuvent être simultanées.

Les teneurs en glucides, NH_3 et protéines ne sont pas régies directement par la loi d'action de masse.

La synthèse de protides solubles n'est pas nécessairement accompagnée d'un accroissement de la teneur en protéines, soit que les

amino-acides et amides formés ne se trouvent pas dans les proportions requises (il est possible que certains soient plus aisément synthétisés que d'autres), soit que la lyse simultanée soit suivie d'une oxydation plus rapide de certains d'entre eux (PETRIE A. H. K. et WOOD J. G., 1938 *b* ; WOOD J. G. 1942).

Il se peut enfin qu'une condition simplement nécessaire à la condensation des amino-acides et indépendante de leur taux ne soit pas réalisée.

Il n'y a pas de corrélation directe entre les teneurs en N soluble organique et en N organique total, quel que soit le mode d'expression choisi pour les calculer (Tableaux IX C, IX E), ainsi que l'ont montré déjà MASON T. G. et PHILLIS E. (1943), dans leurs recherches sur le Coton.

Le fait qu'il n'y a pas de protéogénèse dans l'expérience présente tient à ce qu'elle est faite avec des limbes entiers détachés.

Dans les expériences de PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1938, 1939), seuls les segments basaux méristématiques ou très jeunes des feuilles de Narcisse se révèlent aptes à la protéogénèse, après section.

Dans les feuilles de Graminées, la zone méristématique est très étroite, limitée à la partie voisine de l'insertion de la ligule. Les cellules immédiatement supérieures ne subissent plus qu'une elongation cellulaire au cours de la croissance, sans qu'il y ait une augmentation importante de la masse protoplasmique (De ROPP R. S., en 1946 *(a)*, l'a montré pour les feuilles jeunes de Seigle).

L'augmentation ultérieure du poids de substance est surtout due à l'accroissement de la masse membranaire.

Lorsque le limbe entier est détaché, la protéolyse active dans les tissus plus âgés l'emporte sur la croissance protoplasmique des tissus de la partie basale du limbe.

C'est également la raison pour laquelle l'accroissement de la teneur en amino-acides n'est pas suivi d'une synthèse protéique, contrairement aux observations de WOOD J. G. (1942) faites sur des feuilles de Graminées détachées seulement au moment des analyses et portées par des plantes recevant différentes solutions nutritives azotées et glucosées.

5° *Les variations de l'ion oxalique.* Les teneurs en ion oxalique des tissus analysés et leurs variations sont insignifiantes.

6° *Les échanges gazeux respiratoires, le métabolisme glucidique et le métabolisme azoté.*

a) *Les Intensités respiratoires (Fig. IX b).*

Au début de l'expérience, les limbes ont tous une I. R. identique. Leur teneur en protéines est de même égale, ils renferment des glucides en quantité abondante et il n'est pas possible de mettre en évidence une corrélation entre l'I. R., la teneur en protéines ou la teneur en glucides. Après le transfert sur les milieux de culture glucidiques, l'I. R. augmente considérablement, elle double pour les limbes carencés et triple pour les limbes non carencés ou réalimentés en N après carence.

L'apport glucidique s'accompagne d'une augmentation énorme des échanges respiratoires (cf. SAID H. opérant avec des limbes Orge (1934), cité par CHIBNALL A. C., 1939). Il ne s'agit pas d'oxydations extrinsèques du glucose à la surface du protoplasme, identiques à celles que PLANTÉFOL L. (1937 *a* et *b*, 1938 *a*) a mises en évidence lorsque des glucides (glucose, maltose, saccharose) sont simplement au contact de tissus d'*Hypnum triquetrum* ou de plantules de Blé.

Dans le cas présent, les limbes sont lavés avant les mesures. L'augmentation est liée directement à la physiologie, puisque le glucose absorbé est converti en holoside ; il ne s'agit donc pas d'une simple oxydation réalisée au contact des parois, analogue à celle que GOMPEL M., MAYER A. et WURMSER R. (1924) ont obtenue à l'aide du charbon de sang.

Il s'agit bien d'oxydations *intrinsèques*, réalisées par le cytoplasme et touchant des glucides intra-cytoplasmiques ou vacuolaires. L'élévation de leur rythme est en relation directe avec l'accroissement de la teneur en saccharose (BARKER J. (1936) a mis en évidence, dans les tubercules de Pomme de terre, une relation directe entre l'Intensité respiratoire et la teneur en saccharose, et non en glucose ou en fructose).

La déficience en N s'accompagne d'une I. R. toujours affaiblie (GREGORY F. G. et SEN P. K., 1937).

L'apport ammoniacal entraîne également une élévation du taux des oxydations. L'I. R. des limbes R, réalimentés après carence, est intermédiaire entre l'I. R. des limbes non carencés et celle des limbes en carence continue (Fig. IX b).

Cette élévation n'entraîne pas pour les limbes R la réalisation d'une I. R. supérieure à celle des limbes N. La carence préalable n'a pas eu de conséquences aussi importantes que dans les expériences V et VI.

L'I. R., exprimée par rapport à la teneur en protéines (Tableau 9), s'élève d'abord brusquement après le transfert des limbes sur les solutions glucosées, puis très lentement ultérieurement.

BARKER J. (1936) a déjà remarqué que l'augmentation d'I. R. ne suit pas indéfiniment l'augmentation du taux des glucides solubles, dans les tubercules de Pomme de terre.

Pendant cette dernière période, l'I. R. manifeste une corrélation nette avec la teneur en protéines.

Tout se passe comme si le taux des protéines devenait le facteur limitant de la vitesse des oxydations.

Devant une surabondance de glucides, les catalyseurs protoplasmiques fonctionnent avec leur rendement maximum, ils ne peuvent le dépasser. Un nouvel apport glucidique est de peu d'effet sur les oxydations.

TABLEAU 9

I. R. exprimée en cm^3 de CO_2 émis par h. par rapport à 1 mg. de N protéique.

		1	2	3	4
Limbes	N	0,034	0,11	0,12	0,16
	A	0,035	0,13	0,13	0,15
	R	0,036	0,12	0,11	0,19

L'I. R., exprimée par rapport à la teneur en amino-acides (Tableau 10), ne révèle pas toujours de corrélation directe avec cette dernière.

TABLEAU 10

I. R. exprimée en cm^3 de CO_2 émis par h. par rapport à 1 mg. de N des aminoacides.

		1	2	3	4
Limbes	N	0,20	0,38	0,36	1,00
	A	0,23	0,63	0,55	0,48
	R	0,24	0,36	0,29	0,79

Cependant elle augmente au cours de l'expérience pour les limbes N et R de façon parallèle, soulignant le comportement voisin des limbes alimentés en N. Après l'élévation qui succède au transfert des limbes sur la solution nutritive glucosée, elle se maintient constante, exprimant une relation directe avec la teneur en amino-acides.

Son accroissement brutal en fin d'expérience correspond à la période pendant laquelle s'effectue une conversion d' amino-acides en amides, diminuant le taux des premiers.

Dans le cas des limbes carencés, l'I. R. ainsi exprimée présente une forte augmentation après le transfert, suivie d'une légère diminution correspondant à une phase pendant laquelle l'oxydation protidique est aussi rapide que la protéolyse.

Cette corrélation que GREGORY F. G. et SEN P. K. (1937) et RICHARDS F. J. (1938) ont observée au cours de leurs recherches sur les limbes d'Orge recueillis sur des plantes plus ou moins carencées en Azote, Phosphore et Potassium, se retrouve seulement partiellement dans l'expérience présente.

Enfin la protidogenèse est en relation directe avec l'augmentation de l'intensité des oxydations respiratoires. Cette relation se manifeste, dans cette expérience, en présence d'une teneur élevée en glucides. Elle peut être nettement mise en évidence dans d'autres circonstances, ainsi une plante croissant en milieu aquatique est le siège d'une protidogenèse active, correspondant à une Intensité respiratoire élevée, alors que la teneur de ses tissus en glucides est faible (GERTRUDE M. Th., 1937).

b) *Les Quotients respiratoires* (Fig. IX c).

Les Q. R. des limbes carencés sont à l'origine légèrement plus élevés que les Q. R. des limbes non carencés (cf. exp. V et VI). L'oxydation complète des protides, avec libération définitive de NH_3 , ou incomplète avec formation d'amides, s'accompagne d'une diminution du Q. R. (limbes A). En fin d'expérience, pour les limbes A, l'oxydation de l'asparagine provoque une légère élévation du Q. R.

Les Q. R. des limbes alimentés en N (N et R) s'élèvent au début de l'expérience, cette augmentation est en liaison directe avec la synthèse d' amino-acides qui comprend la réduction de chaînons

carbonés glucidiques en chaînons carbonés aminés moins oxygénés, de Quotient de combustion plus faible (0,8), de sorte que pour la seule oxydation des glucides, un surcroît d'Oxygène d'origine interne se trouve disponible.

En fin d'expérience, la diminution des Q. R. de ces limbes est liée directement à la synthèse d'asparagine, synthèse qui fixe de l'O₂ sans dégagement concomitant de CO₂ (Quotient de combustion de l'asparagine = 1,33).

La forte oxydation des glucides ne masque pas les variations de Q. R. dues au métabolisme protidique, qui est suffisamment intense pour que ses conséquences se manifestent dans les échanges gazeux respiratoires.



CONCLUSION

Les phénomènes les plus saillants de la physiologie des feuilles détachées peuvent être schématisés ainsi :

1° Limbes en survie à l'obscurité, en carence glucidique (Blé - Haricot d'Espagne - Sarrasin - Oseille)

0 h.	48 h.	96 h.	144 h.	192 h.	240 h. Mort
Absorption d'eau			Evacuation d'eau		
Hydrolyse des glucides insolubles métabolisables	Hydrolyse des Protéines				
	des chloroplastes		du cytoplasme		
Oxydation des glucides	Oxydation des Protides et désamination				
genèse d'amides			oxydation des amides		
(Blé - Haricot d'Espagne)					
			oxydation des acides organ. (oxalique : Oseille)		
			accumulation de NH ₃		
			migration de substances solubles		
I. R. élevée (glucides)	I. R. élevée (amino-acides et glucides)	I. R. basse (taux protéique faible)		I. R. élevée (acides organiques)	
Q. R. = 1 (glucides)	Q. R. ≤ 1 (amino-acides et glucides)	Q. R. < 1 (amino-acides)	Q. R. ≤ 1 (amino-acides et amides) (Blé)	Q. R. ≥ 1 (amino-acides, amides et ac. organiques)	
Phase glucidique	Phase protéique			Phase acide (Oseille)	
« floating phase »	Phase protoplasmique « climateric phase » (Blé)		Phase de sénescence (jaunissement)		

2° Limbes exposés à la lumière pendant le jour

(teneur en eau constante)

(Blé - Haricot d'Espagne - Sarrasin)

a) Continuellement alimentés en N (limbes N)					
0 h.	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.	
Oxydation glucidique entièrement compensée par la photosynthèse					
			Protéolyse		
			Oxydation protidique avec genèse d'amides (Blé - Haricot d'Espagne) ou sans genèse d'amides (Sarrasin)		
Teneurs en Azote organique et en Azote total constantes					
I. R. (N) élevée			I. R. (N) diminue (liée au taux protéique)		
Q. R. (N) $\neq 1$			Q. R. (N) < 1 (oxydations protidiques)		
b) carencés en N (limbes A)					
0 h.	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.	
Oxydation glucidique non entièrement compensée par la photosynthèse					
		Protéolyse			
		Oxydation protidique			
		genèse d'amides (Blé, Haricot d'Espagne)		oxydation des amides	
		ou désamination sans formation d'amides (Sarrasin)			
		Perte d'Azote organique et d'Azote total			
I. R. (A) $<$ I. R. (N), constante (liée au taux protéique) ou diminue					
Q. R. (A) $\neq 1$		Q. R. (A) < 1 (oxydation protidique) (augmente pendant l'oxydation des amides)			

c) <i>alimentés en N, après carence</i> (limbes R)				
0 h.	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.
Oxydation glucidique presque compensée par la photosynthèse				
		Protéolyse		
		Oxydation protidique		
		genèse d'amides oxydation des amides (Blé, Haricot d'Espagne) ou désamination sans formation d'amides (Sarrasin)		
Teneurs en Azote organique et en Azote total constantes			Perte d'Azote	
I. R. (R) s'élève, oxydation du type « complémentaire » (limbes de Blé)		I. R. (R) diminue (liée au taux protéique)		
Q. R. (R) = 1 ou > 1 (Blé).		Q. R. (R) < 1 (oxydation protidique)		Q. R. (R) > 1 (oxydation des amides. Blé)

3° Limbes exposés à la lumière pendant le jour et enrichis en glucides (teneur en eau décroissante) (Blé).

a) <i>continuellement alimentés en N</i> (limbes N)			
0 h.	24 h.	48 h.	72 h.
Enrichissement en glucides non réducteurs (saccharose)			
Oxydations		glucidiques	intenses
		Protéolyse	
		Protidogenèse (acides aminés et glutamine puis asparagine)	
		accroissement de la teneur en N organique	
I. R. (N) croît rapidement (liée à l'accroissement de la teneur en glucides)		puis lentement (liée au taux protéique)	
Q. R. (N) = 1		Q. R. (N) > 1 (genèse d'amino-acides)	Q. R. (N) > 1 mais diminuant (genèse d'asparagine)

b) <i>Carencés en N</i> (limbes A)			
0 h.	24 h.	48 h.	72 h.
Enrichissement en glucides non réducteurs (saccharose)			
Oxydations		glucidiques	intenses
	Protéolyse		
	oxydations protidiques (faible genèse d'amides)		
	Perte d'N organique et d'N total		
I. R. (A) croît rapidement (liée à l'accroissement de la teneur en glucides)	puis lentement et moins que I. R. (N) (liée au taux protéique)		
Q. R. (A) = 1	Q. R. (A) < 1 (oxydations protidiques).		
c) <i>alimentés en N après carence</i> (limbes R)			
0 h.	24 h.	48 h.	72 h.
Enrichissement en glucides non réducteurs (saccharose)			
Oxydations		glucidiques	intenses
	Protéolyse		
	Protidogenèse (acides aminés et glutamine puis asparagine)		
	accroissement de la teneur en N organique.		
I. R. (R) croît rapidement (liée à l'accroissement de la teneur en glucides)	puis plus lentement I. R. (N) > I. R. (R) > I. R. (A)		
Q. R. (R) = 1	Q. R. (R) > 1 (genèse d'amino-acides)	Q. R. (R) > 1 mais diminuée (genèse d'asparagine)	

Les résultats obtenus au cours de cette étude permettent de tirer les conclusions générales suivantes, groupées selon les aspects du métabolisme envisagés.

Les dégradations protidiques

Le détachement des feuilles ou des limbes est suivi d'une protéolyse précoce accompagnant l'hydrolyse des glucides insolubles métabolisables. Cette protéolyse affecte d'abord les protéines des chloroplastes, puis les protéines cytoplasmiques et nucléaires.

En carence glucidique (obscurité : Exp. I à IV), l'oxydation protidique fait rapidement suite à la protéolyse. Les amino-acides sont désaminés. L'ammoniaque libérée peut être reprise dans une synthèse d'amides (glutamine, asparagine : Blé, Haricot d'Espagne) ou neutralisée par les acides organiques (Sarrasin et surtout Oseille). Cette reprise n'est que partielle, une partie de l'ammoniaque est évacuée dans le milieu extérieur par la voie des migrations.

Enfin, l'oxydation affecte les amides elles-mêmes. La glutamine, plus instable que l'asparagine, disparaît la première. L'action « d'épargne » qu'exercent les glucides vis-à-vis d'elles est la résultante de l'oxydation préférentielle des glucides.

La *présence de glucides* (Exp. V à IX) a peu d'effet sur la protéolyse. L'action « d'épargne » des glucides vis-à-vis des protides ne se manifeste que pendant une courte durée. L'oxydation protidique s'établit lorsque l'équilibre entre les substances azotées solubles minérales et organiques est rompu.

L'*apport ammoniacal* aux limbes carencés en Azote retarde à la fois la protéolyse et l'oxydation protidique, comme le fait le maintien d'une alimentation azotée constante.

Ce fait illustre l'importance de l'apport alimentaire constant et équilibré qui, dans les feuilles détachées ou non, neutralise les conséquences des migrations génératrices des pertes en substances organiques et assure l'équilibre entre les substances azotées minérales et les protides.

Les synthèses

L'apport glucidique externe (glucose, Exp. IX), entraîne une synthèse d'holosides non réducteurs (saccharose).

L'apport ammoniacal (Exp. V à VIII), en maintenant l'intégrité protoplasmique des limbes préalablement carencés ou non en Azote, favorise l'activité photosynthétique.

La synthèse d'amino-acides (Exp. IX) n'est sensible qu'en présence d'une teneur élevée en glucides (lorsque l'aliment azoté est fourni sous la forme ammoniacale).

La synthèse d'amides est favorisée par la présence de glucides en quantités élevées (comparaison des Exp. I, II, V, VI, VII et IX), quelle que puisse être l'origine des chaînons carbonés des amides.

Cette synthèse ne dépend pas uniquement de la teneur en Ammonium des tissus, elle est liée également à la présence de chaînons carbonés disponibles.

La glutamine (Blé) paraît plus rapidement synthétisée que l'asparagine, de même qu'elle paraît plus rapidement dégradée.

Dans les limbes très riches en glucides (Exp. IX), l'origine des chaînons carbonés des amides est vraisemblablement glucidique.

— D'une manière générale, il n'y a pas de corrélation directe entre les teneurs en protéines, en glucides et en ion Ammonium.

— Il n'y a pas de corrélation directe entre les teneurs en amino-acides totaux et en protéines.

— Cependant la stabilité protéique et protidique du protoplasme requiert une alimentation simultanée azotée et glucidique.

L'Intensité respiratoire

a) *En carence glucidique.*

L'Intensité respiratoire diminue avec la réduction de la teneur des tissus en glucides. Après une forte perte glucidique, elle peut cependant s'élever :

1° à la suite d'un afflux de substances solubles azotées aisément oxydables (amino-acides), et cette élévation accompagne la conversion de l'Azote aminé en Azote amidé (Exp. I. Blé) ;

2° à la suite d'une désorganisation cellulaire pendant la phase de sénescence (jaunissement), cette élévation est liée à la diffusion de substances vacuolaires aisément oxydables dans le cytoplasme, comme l'acide oxalique. L'acide oxalique accélère la désorganisation et les oxydations qui l'accompagnent (Exp. IV, Oseille).

b) *En présence d'un apport de glucides.*

— L'apport glucidique provoque une augmentation du rythme des oxydations intrinsèques (Exp. V, VI et IX).

— La carence en Azote s'accompagne toujours d'une chute relative de l'Intensité respiratoire (Exp. V, VI, VII, VIII, IX) quel que soit le taux des glucides présents.

— L'apport ammoniacal aux limbes préalablement carencés et aux limbes non carencés, favorisant l'intégrité protéique et protoplasmique, s'accompagne du maintien de l'Intensité respiratoire à un niveau élevé.

— L'apport ammoniacal aux limbes préalablement carencés entraîne une oxydation des métabolites accumulés au cours de la carence (*oxydations complémentaires*), et, favorisant les oxydations complètes, diminue le taux de l'acide oxalique (Exp. V et VI, Blé).

— L'Intensité respiratoire en carence glucidique est en corrélation avec la teneur en protéines, cette corrélation est d'autant plus nette que les protéines des chloroplastes sont éliminées. Elle concerne surtout les protéines cytoplasmiques et nucléaires (Exp. I, II, III et IV).

— L'Intensité respiratoire des tissus très riches en glucides est également en corrélation avec la teneur en protéines (Exp. IX).

La première corrélation est établie sur un régime d'oxydations protidiques, les protéines constituant le substrat oxydant et fournissant les métabolites oxydés (« respiration de famine »).

La deuxième est établie sur un régime d'oxydations glucidiques beaucoup plus élevé et correspondant à une saturation du substrat catalytique protoplasmique.

Entre le régime de carence et le régime d'extrême richesse glucidique, l'Intensité respiratoire est très nettement en relation directe avec l'afflux de substances solubles oxydables, que leur origine soit glucidique, protidique ou acide.

En particulier, elle est en relation directe avec la teneur des tissus en amino-acides.

De plus, si l'on admet, avec PETRIE A. H. K. (1943) et BOR-SOOK H. et DUBNOFF F. W. (1943), que les teneurs des tissus en Ammonium, en amino-acides et en protéines sont éloignées de l'état d'équilibre thermodynamique stable, l'intégrité protéique (et par suite protoplasmique) exigeant un apport continuuel d'énergie, on comprend la nécessité de la corrélation entre le taux protéique et le rythme des oxydations respiratoires, quelles que soient par ailleurs les quantités de substances oxydables présentes.

Mais l'intégrité protoplasmique exige de plus la présence cons-

tante de métabolites azotés tels que l'ammoniaque, les amino-acides ou les amides, dont les pertes par simple migration remettent l'équilibre sans cesse en question.

Les synthèses protidiques sont liées à la fois à l'Intensité respiratoire élevée et à l'apport d'aliments azotés.

La nature de ce lien est vraisemblablement double :

énergétique, les synthèses protidiques, comme la croissance protoplasmique, étant toujours liées énergétiquement à la respiration (la croissance constitue globalement une réaction exothermique : TAMIYA H., 1935, WOHL K. et JAMES W. O., 1942) ;

matérielle, l'oxydation glucidique fournissant des chaînons carbonés nécessaires à la protidogenèse au même titre que les substances azotées minérales.

Quant aux oxydations liées simplement à l'afflux de substances aisément oxydables, elles peuvent ne jouer aucun rôle direct dans l'économie cellulaire.

Le Quotient respiratoire

L'examen du Quotient respiratoire permet de suivre les phases du métabolisme azoté, dégradations ou synthèses qui retentissent sur la nature des échanges gazeux respiratoires. Leur lien avec le Quotient respiratoire est sensible lorsque les substances en jeu ont un Quotient de combustion nettement différent de celui des glucides (amino-acides, asparagine).

L'oxydation des amino-acides s'accompagne d'une diminution du Quotient respiratoire, sensible même s'il ne s'agit que d'une conversion d'N aminé en N amidé.

L'oxydation de l'asparagine provoque une élévation du Quotient respiratoire.

Par ailleurs, la synthèse des amino-acides s'accompagne d'une augmentation du Quotient respiratoire apparent.

Mais les variations du Quotient respiratoire correspondant aux diverses phases du métabolisme azoté peuvent être complètement masquées si d'autres métabolites, à Quotient de combustion différent de l'unité, interviennent. En particulier l'oxydation simultanée de protides et d'acides organiques peut se traduire par un

Quotient respiratoire de compensation voisin de l'unité, comme le ferait une simple oxydation glucidique.

* * *

L'étude comparée des variations de l'Intensité et du Quotient respiratoires et de celles des principales formes glucidiques et protidiques des feuilles permet donc de distinguer parmi les oxydations respiratoires :

- 1° les oxydations liées à la stabilité des protéines, c'est-à-dire au maintien de l'équilibre entre la protéolyse et la protéogenèse;
- 2° les oxydations liées à l'accroissement protidique des tissus, et par suite à la croissance protoplasmique;
- 3° les oxydations qui ne dépendent que de l'afflux plus ou moins considérable des métabolites aisément oxydables.



DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Les oxydases des végétaux supérieurs

Vu et approuvé :

Paris, le 15 juin 1949.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

A. CHATELET.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean SARRAILH.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ALBAUM H. G. et COHEN P. P. (1943). — Transamination and protein synthesis in germinating oat seedlings. *Journ. biol. Chem.*, **149**, p. 19-27.
- ALCOCK R. S. (1936). — The synthesis of proteins « in vivo ». *Physiol. Rev.*, **16**, p. 1-18.
- ALLISON F. E., LOVE K. S., PINCK L. A. et GADDY V. L. (1948). — Gaseous losses of nitrogen from green plants. I Studies with *Chlorella* and *Lemna*. *Plant Physiol.*, **23**, p. 496-504.
- ALLISON F. E. et STERLING L. de T. (1948). — Gaseous losses of nitrogen from green plants. II Studies with excised leaves in nutrient media. *Plant. Physiol.*, **23**, p. 601-608.
- AMOS G. L. et WOOD J. G. (1939). — The effects of variation in nitrogen-supply and water content on the amounts of carbohydrates in the leaves of grass plants. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, **17**, p. 285-320.
- ARCHBOLD H. K. (1940). — Fructosans in the Monocotyledons. A review. *New Phytol.*, **39**, p. 185-219.
- ARENZ B. (1941). — Ueber die Aufnahme und Verarbeitung von $\text{NO}_3\text{-N}$ und $\text{NH}_4\text{-N}$ durch Gramineenkeimlinge. *Bodenk u. Pflanzenernähr.*, **27**, p. 330-352.
- ARENZ B. (1941). — Beitrag zur physiologischen Auswirkung von Ammoniak und Nitratstickstoff. *Biochem. Zeits.*, **303**, p. 196-212.
- ARENZ B. (1941). — Ueber die Aufnahme und Verarbeitung von $\text{NO}_3\text{-N}$ und $\text{NH}_4\text{-N}$ durch Leguminosenkeimlinge. *Bodenk u. Pflanzenernähr.*, **27**, p. 352-368.
- ARNEY S. E. (1947). — The respiration of strawberry leaves attached to the plant. *New Phytol.*, **46**, p. 68-96.
- ASTRUC A. (1903). — Recherches sur l'acidité végétale. *Ann. Sc. nat.*, 8^e s. Bot., **17**, p. 1-108.
- AUBERT E. (1892). — Recherches sur la respiration et l'assimilation des plantes grasses. *Rev. gén. Bot.*, **4**, p. 203-219 ; 273-282 ; 321-331 ; 337-353.
- AUDUS L. J. (1935). — Mechanical stimulation and respiration rate in the cherry laurel. *New. Phytol.*, **34**, p. 386-402.
- AUDUS L. J. (1939). — Mechanical stimulation and respiration rate in the green leaf. II. Investigations on a number of Angiospermic species. *New Phytol.*, **38**, p. 284-288.
- AUDUS L. J. (1941). — Mechanical stimulation and respiration in the green leaf. V. The relation of mechanical stimulation effects to leaf turgidity. *New Phytol.*, **40**, p. 92-95.

- AUDUS L. J. (1947). — The effects of illumination on the respiration of shoots of the cherry laurel. *Ann. Bot.*, **11**, p. 165-201.
- BACH D. (1932). — Le dosage de l'ammoniaque par entraînement à la vapeur d'eau, dans le vide. *Bull. Sc. pharmacol.*, **39**, p. 607-614.
- BACH D. (1933). — Le dosage de l'azote nitrique par la méthode de Devarda. Application aux milieux biologiques. *Bull. Sc. pharmacol.*, **40**, p. 459-469.
- BARKER J. (1936). — Analytic studies in Plant respiration. VI-Part. 3. *Proc. Roy. Soc. (London)*, B, **119**, p. 453-473.
- BEAUQUESNE L. (1946). — Les substances polyuroniques (gommes, mucilages, pectines, pseudo-celluloses). *Ann. pharm. fr.*, **4**, p. 271-301.
- BELVAL H. (1924). — La genèse de l'amidon dans les céréales. *Rev. gen. Bot.*, **36**, p. 337-356.
- BENNETT-CLARK T. A. (1932). — The respiratory quotients of succulent plants. *Proc. Roy. Dublin Soc.*, **20**, p. 293-299.
- BENNETT-CLARK T. A. (1933). — The role of organic acids in plant metabolism. *New Phytol.*, **32**, p. 37-71 ; 128-161 ; 197-230.
- BERTHELOT M. et ANDRÉ G. (1885). — Sur l'acide oxalique dans la végétation. Méthodes d'analyses. *C. R. Ac. Sc.*, **101**, p. 354-360.
- BERTHELOT M. et ANDRÉ G. (1886 a). — Sur la formation de l'acide oxalique dans la végétation. Etude du *Rumex Acetosa* (Oseille). *C. R. Ac. Sc.*, **102**, p. 995-1001.
- BERTHELOT M. et ANDRÉ G. (1886 b). — Contribution à l'histoire de la décomposition des amides par l'eau et les acides étendus. *C. R. Ac. Sc.*, **102**, p. 1051-1057.
- BEZAGU M. (1919). — Variations de la respiration des cellules de la feuille avec l'âge. *C. R. Ac. Sc.*, **169**, p. 701-702.
- BJÖRKSTEN J. (1930). — Zur Kenntniss der Synthese von Eiweissstoffe und ihrer Bausteine bei höheren Pflanzen. *Biochem Zeits.*, **225**, p. 1-80.
- BLACKMAN F. F. (1908). — The manifestations of the principles of chemical mechanisms in the living plant. *Rep. Brit. Assoc.*, p. 884.
- BLACKMAN F. F. (1928). — Analytic studies in plant respiration. III. Formulation of a catalytic system for the respiration of apples and its relation to oxygen. *Proc. Roy. Soc. (London)*, B, **103**, p. 491-523.
- BONNER J. (1946). — The role of organic matter, especially manure in the nutrition of rice. *Bot. Gaz.*, **108**, p. 267-279.
- BONNIER G. et MANGIN L. (1884 a). — Recherches sur la respiration et la transpiration des champignons. *Ann. Sc. nat.*, 6^e s. Bot., **17**, p. 210-305.
- BONNIER G. et MANGIN L. (1884 b). — Recherches sur la respiration des tissus sans chlorophylle. *Ann. Sc. nat.*, 6^e s. Bot., **18**, p. 293-382.
- BONNIER G. et MANGIN L. (1884 c). — Recherches sur la respiration des feuilles à l'obscurité. *Ann. Sc. nat.*, 6^e s. Bot., **19**, p. 217-255.
- BONNIER G. et MANGIN L. (1885). — La fonction respiratoire chez les végétaux. *Ann. Sc. Nat.*, 7^e s. Bot., **2**, p. 365-380.
- BORODIN I. (1876). — Physiologische Untersuchungen über die Athmung der beblätterten Sprosse. *Botan. Jahresb.*, **4**, p. 919-923.
- BORODIN I. (1878). — Ueber die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins in Pflanzenreiche. *Bot. Zeit.*, **36**, p. 801-832.

- BORSOOK H. et DUBNOFF J. W. (1943). — The metabolism of proteins and amino-acids. *Ann. Rev. Biochem.*, **12**, p. 183-204.
- BOULANGER P. (1943). — Etudes sur les peptides urinaires. II. Méthode de dosage, interprétation des résultats. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **25**, p. 317-322.
- BOULANGER P., DEWEZ A. et CATTEAU A. (1942). — Etude sur les peptides urinaires I. Méthode de dosage. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **24**, p. 237-240.
- BOUSSINGAULT M. (1868). — Agronomie, chimie agricole et physiologie., t. IV, Paris, Gauthier-Villars éd.
- BROWN R. (1946). — Studies on germination and seedling growth. III. Early growth in relation to certain aspects of nitrogen metabolism in the seedling of barley. *Ann. Bot.*, **10** p. 73-96.
- BRUNEL A. et CAPELLE G. (1947). — Sur l'importance biologique des uréides glyoxyliques chez les êtres vivants. I. L'allantoïne et l'acide allantoïque chez les végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **29**, p. 427-444.
- BURSTRÖM H. (1943). — Photosynthesis and assimilation of nitrate by wheat leaves. *Lantbrukshögskol. Ann. Sverige*, **11**, p. 1-50.
- BUTKEWITSCH W. (1909). — Das Ammoniak als Umwandlungsprodukt stickstoffhaltiger stoffe höheren Pflanzen. *Biochem. Zeits.* **16**, p. 441-452.
- CHEVILLARD L., MAYER A. et PLANTEFOL L. (1930). — Action de l'oxygène libre sur la respiration des tissus végétaux aériens. II. Comparaison entre la respiration et les échanges gazeux en l'absence d'oxygène. *Ann. Physiol. Physico-chimie Biol.*, **6**, p. 506-548.
- CHIBNALL A. C. (1922 a). — Investigation on the nitrogenous metabolism of the higher plants. II. The distribution of nitrogen in the leaves of the runner bean. *Biochem. Journ.*, **16**, p. 344-362.
- CHIBNALL A. C. (1922 b). — Id. IV. Distribution of nitrogen in the dead leaves of the runner bean. *Biochem. Journ.*, **16**, p. 608-610.
- CHIBNALL A. C. (1923). — Diurnal variations in the total nitrogen content. *Ann. Bot.*, **37**, p. 511-518.
- CHIBNALL A. C. (1924 a). — Investigation on the nitrogenous metabolism of the higher plant. V. Diurnal variations in the protein nitrogen of runner bean leaves. *Biochem. Journ.*, **18**, p. 387-394.
- CHIBNALL A. C. (1924 b). — Id. VI. The role of asparagine in the metabolism of the mature plant. *Biochem. Journ.*, **18**, p. 395-404.
- CHIBNALL A. C. (1924 c). — Id. VII. Leaf protein metabolism in normal and abnormal runner bean plants. *Biochem. Journ.*, **18**, p. 405-407.
- CHIBNALL A. C. (1939). — Protein metabolism in the plant. Yale University Press.
- CHIBNALL A. C. et GROVER C. E. (1926). — A chemical study of leaf cell cytoplasm. I. The soluble proteins. *Biochem. Journ.*, **20**, p. 108-118.
- CHIBNALL A. C., REES M. W. et WILLIAMS E. F. (1943). — The total nitrogen content of egg albumin and other proteins. *Biochem. Journ.*, **37**, p. 354-359.
- CHIBNALL A. C. et SAHAI P. N. (1931). — Observations on the fat metabolism of leaves. *Ann. Bot.*, **45**, p. 489-502.
- CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G. (1932). — The estimation of glutamine in the presence of asparagine. *Biochem. Journ.*, **26**, p. 122-132.

- COMBES R. (1926). — Migration des substances azotées des feuilles vers les tiges et les racines des arbres au cours du jaunissement automnal. *Rev. gen. Bot.*, 38, p. 430-448 ; 510-517 ; 565-579 ; 632-645, 673-686.
- COMBES R. (1927). — La substance azotée chez une plante ligneuse au cours d'une année de végétation. *C. R. Ac. Sc.*, 184, p. 533-535.
- COMBES R. (1928 a). — Etude critique de la méthode de Sachs appliquée à la mesure des migrations de substances. *C. R. Ac. Sc.*, 187, p. 666-668.
- COMBES R. (1928 b). — Influence des traumatismes sur les migrations de substances chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 187, p. 993-995.
- COMBES R. (1931). — Titres et travaux scientifiques. Barnéoud éd., Laval.
- COMBES R., BRUNEL A. et CHABERT A. (1942). — Le métabolisme des protides chez un végétal cultivé à des intensités lumineuses différentes. *C. R. Ac. Sc.*, 214, p. 681-683.
- COMBES R. et KOHLER D. (1922 a). — Rôle de la respiration dans la diminution des hydrates de carbone des feuilles pendant le jaunissement automnal. *C. R. Ac. Sc.*, 175, p. 406-409.
- COMBES R. et KOHLER D. (1922 b). — Etude biochimique de la chute des feuilles. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 22, p. 539-545.
- COMBES R. et PINEY M. (1929 a). — I. Protéolyse et protéogenèse chez les plantes ligneuses au début de la période active de végétation. *C. R. Ac. Sc.*, 188, p. 79-81.
- COMBES R. et PINEY M. (1929 b). — II. Protéolyse et protéogenèse chez les plantes ligneuses au cours de l'été et de l'automne. *C. R. Ac. Sc.*, 189, p. 942-944.
- COUCH J. F., NAGHSKI J. et KREWSON C. F. (1946). — Buckwheat as a source of rutin. *Science, New-York*, 103, p. 197-198.
- CRAFTS A. S. (1939). — Movement of virus, auxins and chemical indicators in plants. *Bot. Rev.*, 5, p. 471-504.
- CRUICKSHANK D. H. et WOOD J. G. (1945). — The metabolism of starving leaves. 6. Nitrogen balance sheet and changes in organic acid content during starvation of oat leaves. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, 23, p. 243-247.
- CUGNAC A. de (1931). — Les glucides des Graminées. *Ann. Sc. nat.*, 10^e s. Bot., 13, p. 1-129.
- CURTIS O. F. (1935). — The translocation of solutes in plants. New-York et Londres, Mac Graw-Hill Book Comp..
- DELAUNAY H. (1927). — Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée des Invertébrés. *Th. Doct. Sc. nat.*, Paris.
- DELEANO N. T. (1912). — Studien über den Atmungstoffwechsel abgeschnittener Laubblätter. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 51, p. 541-592.
- DENNY F. E. (1929). — Role of mother tuber in growth of potato plant. *Bot. Gaz.*, 87, p. 157-194.
- DENNY F. E. (1932). — Changes in leaves during the night. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 4, p. 65-83.
- DE ROPP R. S. (1945). — Studies in the physiology of leaf growth. I. The effect of various accessory growth-factors on the growth of the first leaf of isolated stem tips of rye. *Ann. Bot.*, 9, p. 369-381.

- DE ROPP R. S. (1946 a). — Id. II. Growth and structure of the first leaf of rye when cultivated in isolation or attached to the intact plant. *Ann. Bot.*, **10**, p. 31-40.
- DE ROPP R. S. (1946 b). — Id. III. The influence of roots on the growth of leaves and stems in rye. *Ann. Bot.*, **10**, p. 353-359.
- DOMIEN F. (1949). — Influence de la déshydratation sur la respiration des feuilles de végétaux aériens. *Rev. gén. Bot.*, **56**, p. 285-317.
- DUMAZERT C. et MARCELET Y. (1938). — Sur un nouveau catalyseur de minéralisation en vue du dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **20**, p. 201-212.
- ECHEVIN R. (1931). — L'azote, le phosphore et le soufre chez les plantes ligneuses à feuilles caduques. *Rev. gén. Bot.*, **43**, p. 517-677.
- FISCHER H. (1936). — Untersuchungen über die Stickstoffwanderung in der höheren Pflanzen. *Zeit. Bot.*, **30**, p. 449-498.
- FOREMAN F. W. (1920). — Rapid volumetric methods for the estimation of amino-acids, organic acids and organic bases. *Biochem. Journ.*, **14**, p. 451-473.
- FOURNIER P. (1948). — Exposé critique des propriétés chimiques des constituants des membranes végétales. *Rev. gén. Bot.*, **55**, p. 49-88.
- FROMAGEOT C. et DESNUELLE P. (1934). — Ueber die Synthese von Aminosäuren durch Hefe. II. Isolierung von Alanin. *Biochem. Zeits*, **273** p. 24-30.
- GALSTONE A. W. (1943). — The isolation, agglutination and nitrogen analysis of intact oat chloroplast. *Amer. Journ. Bot.*, **30**, p. 331-334.
- GARREAU M. (1851). — De la respiration chez les plantes. *Ann. Sc. nat.* 3^e s. Bot., **15**, p. 5-36.
- GERTRUDE M.-Th. (1937). — Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. *Rev. gén. Bot.*, **49**, p. 328-352 ; 375-400.
- GESSNER F. et SCHUMANN-PETERSEN M. (1948). — Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Pflanzen bei Stickstoffmangel. *Z. Nat. Forsch., B, Dtsch.*, **3**, p. 36-41.
- GODLEWSKI E. (1882). — Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenathmung. *Jahrb. f. Wissens. Bot.*, **13**, p. 481-543.
- GODWIN H. (1926). — Metabolism of starvation in leaves. Ph. D. Thesis University, Cambridge.
- GODWIN H. (1935). — The effect of handling on the respiration of cherry laurel leaves. *New. Phytol.*, **34**, p. 403-406.
- GODWIN H. et BISHOP L. R. (1927). — The behaviour of the cyanogenetic glucosides of cherry laurel during starvation. *New Phytol.*, **26**, p. 295-315.
- GOMPEL M., MAYER A. et WURMSER R. (1924). — Recherches sur l'oxydabilité des corps organiques à la température ordinaire. *C. R. Ac. Sc.*, **178**, p. 1025-1027.
- GOUVENTAK C. A. (1931). — Ueber die herbstliche Aenderung von Stickstoff und Trockengewicht im Laubblatt einer einjährigen Pflanze. *Rec. Trav. Bot. Neerl.*, **28**, p. 421-430.
- GREGORY F. G. et SEN P. K. (1937). — Physiological studies in plant nutrition. VI. The relation of respiration rate to the carbohydrate and nitrogen metabolism of the barley leaf as determined by nitrogen and potassium deficiency. *Ann. Bot.*, **1**, p. 521-561.

- HANSON E. A., BARRIEN B. S. et WOOD J. G. (1941). — Relations between protein-nitrogen, protein-sulphur and chlorophyll in leaves of sudan grass. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, **19**, p. 231-234.
- HÉE A. (1930). — Contributions à l'étude de la respiration chez les végétaux. *Th. Doct. Sc. nat.* Louis Jean éd. Gap.
- HILPERT R. S. et HEIDRICH K. (1934). — Ueber Beziehungen zwischen Stickstoff und Chlorophyllgehalt bei natürlicher und krankhafter Vergilbung der Blätter. *Ber. deutsch Chem. Gesel.*, **67**, p. 1077-1081.
- HOUGET J., MAYER A. et PLANTEFOL L. (1927). — Sur une forme particulière d'oxydation biologique. I. Cas de la Mousse. Action de l'acide oxalique. *Ann. Physiol. Phys.-chim. biol.*, **3**, p. 663-711.
- HUSEIN SAÏD et TOLBA M. K. (1948). — The effect on stomacal behaviour of detaching leaves of *Kalanchoe* and *Mesembryanthemum* at different times of the day. *New Phytol.*, **47**, p. 284-287.
- IRVING A. et HANKINSON R. (1908). — The presence of a nitrate reducing enzyme in green plants. *Biochem. Journ.*, **3**, p. 87-96.
- IRVING G. W. jr., FONTAINE T. D. et SAMUELS C. S. (1944). — The reaction of ammonia in the Van Slyke volumetric amino-nitrogen method. *Arch. Biochem.*, **4**, p. 347-359.
- JAMES G. M. et JAMES W. O. (1940). — The formation of pyruvic acid in barley respiration. *New Phytol.*, **39**, p. 266-270.
- JAMES W. O. (1943). — An introduction to plant physiology. Oxford Clarendon Press.
- JORDAN R. C. et CHIBNALL A. C. (1933). — Observations on the fat metabolism of leaves. II. Fat and phosphatides of the runner bean (*Phaseolus multiflorus*). *Ann. Bot.*, **47**, p. 163-186.
- KENDRICK A. B. et HANKE M. E. (1937). — The use of iodine and other modifications in the Van Slyke manometric amino-nitrogen method. *Journ. biol. Chem.*, **117**, p. 161-174.
- KLEIN G. (1932). — Handbuch der Pflanzenanalyse. Wien, Julius Springer éd.
- KRAMER P. J. (1937). — The relation between rate of transpiration and rate of absorption of water in plants. *Amer. Journ. Bot.*, **24**, p. 10-15.
- KREBS H. A. et JOHNSON W. A. (1937). — The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *Enzymologia*, **4**, p. 148-156.
- KROTKOV G. (1939). — Carbohydrate and respiratory metabolism in the isolated starving leaf of wheat. *Plant Physiol.*, **14**, p. 203-226.
- KULTZSCHER M. (1932). — Die biologische NH_3 -Entgiftung in höheren Pflanzen in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionen-Konzentration des Zellsaftes. *Planta*, **17**, p. 699-757.
- LAGATU H. et MAUME L. (1929). — Le diagnostic foliaire et son degré de sécurité. *C. R. Ac. Sc.*, **188**, p. 1062-1064.
- LATIES G. G. (1947). — The role of pyruvate in the aerobic respiration of barley roots. *Amer. Journ. Bot.*, **34**, p. 601.
- LEMOIGNE M., MONTGUILLON P. et DESVEAUX R. (1937). — Recherches sur le rôle biochimique de l'hydroxylamine. VI. Nouveaux résultats sur la présence de composés volatils de l'hydroxylamine dans les feuilles fraîches des végétaux supérieurs. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **19**, p. 671-674.

- LEONARD M. J. K. et BURRIS R. H. (1947). — A survey of transaminases in plants. *Journ. biol. Chem.*, **170**, p. 701-709.
- LINDERSTRÖM-LANG K. (1928). — Titrimetrische Bestimmung von Amino-stickstoff. *Zeit. physiol. Chem.*, **173**, p. 32-47.
- LINDERSTRÖM-LANG K. (1939). — Proteolytic enzymes. *Ann. Rev. Biochem.*, **8**, p. 37-58.
- LIVINGSTON B. E. et BROWN W. H. (1912). — Relation of the daily march of transpiration to variations in the water content of foliage leaves. *Bot. Gaz.*, **53**, p. 309-330.
- LUGG J. W. H. (1939). — The representativeness of extracted samples and the efficiency of extraction of protein from the fresh leaves of plants; and some partial analyses of the whole proteins of leaves. *Biochem. Journ.*, **33**, p. 110-122.
- LUGG J. W. H. et WELLER R. A. (1944). — Large-scale extraction of protein samples reasonably representative of the whole proteins in the leaves of some plants : the amide, tyrosine, tryptophane, cystine (plus cysteine) and methionine contents of the preparations. *Biochem. Journ.*, **38**, p. 408-411.
- MAC KEE H. S. (1937). — A review of recent work on the nitrogen metabolism of plants. I et II. *New Phytol.*, **36**, p. 35-56 et 240-266.
- MAC KEE H. S. (1949). — Review of recent work on nitrogen metabolism. *New phytol.*, **48**, p. 1-83.
- MAC KEE H. S. et LOBB D. E. (1938). — Formation of nitrate in detached green leaves of swiss chard and tomato. *Plant. Physiol.*, **13**, p. 407-412.
- MAIGE A. et NICOLAS G. (1910). — Recherches sur l'influence des variations de la turgescence sur la respiration de la cellule. *Rev. gén. Bot.*, **22**, p. 409-422.
- MAQUENNE L. et DEMOUSSY E. (1913). — Nouvelles recherches sur les échanges gazeux des plantes vertes avec l'atmosphère. Paris, Gauthier Villars éd.
- MASON T. G. et PHILLIS E. (1934). — Studies on the transport of nitrogenous substances in the cotton plant. VI. Concerning storage in the bark. *Ann. Bot.*, **48**, p. 315-333.
- MASON T. G. et PHILLIS E. (1939). — Experiments on the extraction of sap from the vacuole of the leaf of the cotton plant and their bearing on the osmotic theory of water absorption by the cell. *Ann. Bot.*, **3**, p. 531-544.
- MASON T. G. et PHILLIS E. (1942). — Studies on foliar hydratation in the cotton plant. II. Preliminary observations using the disc-culture method. *Ann. Bot.*, **6**, p. 455-468.
- MASON T. G. et PHILLIS E. (1943). — Studies on the partition of the mineral elements in the cotton plant. More about nitrogen, phosphorus and labile carbohydrate. *Ann. Bot.*, **7**, p. 399-408.
- MEUNIER A. (1933). — Les méthodes biochimiques des recherches des osides. *Thèse Doct. Sc. nat.*, Lons-le-Saulnier, Declume éd.
- MEYER A. (1918). — Eiweissstoffwechsel und Vergilben der Laubblätter von *Tropaeolum majus*. *Flora*, **111**, p. 85-127.
- MEYER A. et DELEANO N. T. (1911). — Die periodischen Tag und Nachtschwankungen der Atmungsgrösse im Dunkeln befindlicher Laub-

- blätter und deren vermutliche Beziehung zur Kohlensäure assimilation. *Zeits. f. Bot.*, **3**, p. 657-701.
- MEYER A. et DELEANO N. T. (1913). — Die periodischen Tag und Nachtschwankungen der Atmungsgrösse im Dunkeln befindlicher Laubblätter und deren vermutliche Beziehung zur Kohlensäureassimilation. II Teil. *Zeits. f. Bot.*, **5**, p. 209-320.
- MICHAEL G. (1935). — Ueber die Beziehungen zwischen Chlorophyll und Eiweissabbau in vergilbenden Laubblatt von *Tropaeolum majus*. *Zeits. f. Bot.*, **29**, p. 385-425.
- MILLER E. C. (1924). — Daily variation of the carbohydrates in the leaves of corn and sorghums. *Journ. agric. Res.*, **27**, p. 785-808.
- MILLER E. J. (1936). — The amino-acids of cocksfoot protein with special reference to the dicarboxylic acids and proline. *Biochem. Journ.*, **30**, p. 273-279.
- MÖBIUS M. (1927). — Die Farbstoffe der Pflanzen. LINDSBAUER : Handbuch der Pflanzenanatomie. Berlin, Bornträger éd.
- MOLLIARD M. (1904). — Sur la production expérimentale de radis à réserves amylacées. *C. R. Ac. Sc.*, **139**, p. 885-888.
- MOLLIARD M. (1909). — Sur la formation d'ammoniaque par les tissus végétaux privés d'oxygène. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **56**, p. 332-334.
- MOLLIARD M. (1916). — Sur le dégagement d'oxygène provenant de la réduction des nitrates par les plantes vertes. *C. R. Ac. Sc.*, **163**, p. 371-373.
- MOLLIARD M. (1922 a). — Sur une nouvelle fermentation acide produite par le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, **174**, p. 881-883.
- MOLLIARD M. (1922 b). — Influence de la nutrition azotée sur l'acidité des plantes supérieures. *C. R. Soc. Biol.*, **87**, p. 221-222.
- MOLLIARD M. (1923). — Influence de la nature de l'aliment azoté sur les échanges gazeux. *Rev. gén. Bot.*, **35**, p. 6-23.
- MOTHES K. (1925). — Die Bedeutung des Säureamide für den Stickstoffwechsel der höheren Pflanze. *Planta*, **1**, p. 317-320.
- MOTHES K. (1926). — Ein Beitrag zur Kenntniss des Stickstoffwechsel höheren Pflanzen. *Planta*, **1**, p. 472-552.
- MOTHES K. (1929). — Physiologische Untersuchungen über das Asparagin und das Arginin in Coniferen. Ein Beitrag zur Theorie der Ammoniakentgiftung im pflanzlichen Organismus. *Planta*, **7**, p. 585-649.
- MOTHES K. (1931). — Zur Kenntniss des N-stoffwechsels höherer Pflanzen. 3. Beitrag (unter besonderer berücksichtigung des Blattalters und des Wasserhaushaltes). *Planta*, **12**, p. 686-731.
- MOTHES K. (1933 a). — Die Vakuuminfiltration im Ernährungsversuch dargestellt an Untersuchungen über die Assimilation des Ammoniaks. *Planta*, **19**, p. 117-138.
- MOTHES K. (1933 b). — Sauerstoffpotential und Eiweissumsatz im Laubblatt. *Flora*, **128**, p. 58-98.
- MOTHES K. (1938). — Stickstoffbilanz und Stickstoffverlust. *Planta*, **28**, p. 599-616.
- MOTHES K. (1940). — Zur Biosynthese der Säureamide Asparagin und Glutamin. *Planta*, **30**, p. 726-756.

- MOYER L. S. et FISHMAN M. M. (1943). — The chlorophyll-protein complex. II. Species relationship in certain Legumes as shown by electric mobility curves. *Bot. Gaz.*, **104**, p. 449-454.
- MOYSE A. (1946 a). — Contribution à l'étude des substances azotées chez les végétaux. *Rev. gén. Bot.*, **53**, p. 477-492.
- MOYSE A. (1946 b). — Sur les échanges gazeux de limbes morts et vivants. *Rev. gén. Bot.*, **53**, p. 558-574.
- MOYSE A. (1947 a). — Sur les échanges gazeux des feuilles adultes maintenues à l'obscurité. *C. R. Ac. Sc.*, **224**, p. 147-149.
- MOYSE A. (1947 b). — Sur le métabolisme azoté des feuilles adultes maintenues à l'obscurité. *C. R. Ac. Sc.*, **224**, p. 1297-1299.
- MOYSE A. (1948). — Nutrition azotée et respiration des feuilles, *C. R. Ac. Sc.*, **226**, p. 103-105.
- MOYSE A. (1949). — Sur la nutrition et le métabolisme azotés des feuilles détachées. *C. R. Ac. Sc.*, **228**, p. 118-120.
- NELSON E. K. et HASSELBRING H. (1931). — Some organic acids of wheat, plants. *J. Amer. Chem. Soc.*, **53**, p. 1040-1043.
- NICOLAS G. (1909). — Recherches sur la respiration des organes végétatifs des plantes vasculaires. *Ann. Sc. nat.*, 9^e s. Bot., **10**, p. 1-113.
- NICOLAS G. (1918). — Contribution à l'étude des variations de la respiration des végétaux avec l'âge. *Rev. gén. Bot.*, **30**, p. 208-225.
- NIGHTINGALE G. T. (1948). — The nitrogen nutrition of green plants. II. *Bot. Rev.*, **14**, p. 185-221.
- OSBORNE T. B., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1922). — The water soluble constituents of the alfalfa plant. *Journ. biol. Chem.*, **53**, p. 411-429.
- PAECH K. (1934). — Zur natürlichen Regulation des Eiweissstoffwechsels in Pflanzen. *Planta*, **22**, p. 794-799.
- PAECH K. (1935). — Ueber die Regulation des Eiweissumsatzes und über den Zustand des proteolytischen Fermente in den Pflanzen. *Planta*, **24**, p. 78-129.
- PALLADINE W. (1888). — Ueber Eiweisszersetzung in den Pflanzen bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff. *Ber. d. d. Bot. Ges.*, **6**, p. 205-212.
- PALLADINE W. (1893). — Recherches sur la respiration des feuilles vertes et des feuilles étiolées. *Rev. gén. Bot.*, **5**, p. 449-473.
- PALLADINE W. (1896). — Recherches sur la corrélation entre la respiration des plantes et les substances azotées actives. *Rev. gén. Bot.*, **8**, p. 225-248.
- PALMQUIST E. M. (1938). — The simultaneous movement of carbohydrates and fluorescein in opposite directions in the phloem. *Amer. Journ. Bot.*, **25**, p. 97-105.
- PARIJA P. et SARAN A. B. (1934). — The effect of light on the respiration of starved leaves. *Ann. Bot.*, **48**, p. 347-354.
- PARIS R. (1949). — Le rutioside (rutine), sa préparation à partir de diverses espèces et variétés de Sarrasin cultivées en France. *Ann. pharm. fr.*, **7**, p. 21-26.
- PEARSALL W. H. (1949). — Le métabolisme azoté dans les plantes. *Endeavour*, **8**, p. 99-105.
- PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1936). — Nitrogen losses in green plants. *Nature*, **138**, p. 801-802.

- PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1937). — Losses of nitrogen from green plants. *Biochem. Journ.*, 31, p. 1743-1750.
- PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1938). — Effects of age and of season upon protein synthesis in detached leaves. *Ann. Bot.*, 2, p. 317-333.
- PEARSALL W. H. et BILLIMORIA M. C. (1939). — The influence of light upon nitrogen metabolism in detached leaves. *Ann. Bot.*, 3, p. 601-618.
- PERCIVAL J. (1921). — The wheat plant. A monograph. London, Duckworth and Co éd.
- PETRIE A. H. K. (1943). — Protein synthesis in plants. *Biol. Rev.*, 18, p. 105-118.
- PETRIE A. H. K. et WILLIAMS R. F. (1938). — Physiological ontogeny in plants and its relation to nutrition. V. The effect of nitrogen and phosphorus supplies on the respiration rate of the leaves. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, 16, p. 347-360.
- PETRIE A. H. K. et WOOD J. G. (1938 a). — Studies on the nitrogen metabolism of plants. I. The relation between the content of proteins, amino-acids and water in the leaves. *Ann. Bot.*, 2, p. 33-60.
- PETRIE A. H. K. et WOOD J. G. (1938 b). — Id. III. On the effect of water-content on the relationship between proteins and amino-acids. *Ann. Bot.*, 2, p. 887-898.
- PFEFFER W. (1905). — Physiologie végétale, t. I, Paris, Scheicher Fres éd.
- PHILLIS E. et MASON T. G. (1936). — Further studies on transport in the cotton plant. IV. Simultaneous movement of solutes in opposite directions through the phloem. *Ann. Bot.*, 50, p. 161-174.
- PHILLIS E. et MASON T. G. (1937). — On the effect of light and of oxygen on the uptake of sugar by the foliage leaf. *Ann. Bot.*, 1, p. 231-237.
- PHILLIS E. et MASON T. G. (1939). — Studies on the partition of the mineral elements in the cotton plant. I. Preliminary observations on nitrogen and phosphorus. *Ann. Bot.*, 3, p. 569-585.
- PHILLIS E. et MASON T. G. (1942). — Id. III. Mainly concerning nitrogen. *Ann. Bot.*, 6, p. 469-485.
- PHILLIS E. et MASON T. G. (1945). — Studies on foliar hydratation in the cotton plants. VI. A gel theory of cell-water relations. *Ann. Bot.*, 9, p. 297-334.
- PLANTEFOL L. (1922). — Sur la toxicité de divers phénols nitrés pour le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.*, 174, p. 123-126.
- PLANTEFOL L. (1927). — Etude biologique de l'*Hypnum triquetrum*. Relations entre la morphologie, la physiologie et l'écologie d'une espèce végétale. *Ann. Sc. nat.*, 10^e s. Bot., 9, p. 1-269.
- PLANTEFOL L. (1932 a). — Etude sur l'action du dinitrophénol 1-2-4. VII. Action du dinitrophénol 1-2-4 sur la respiration des cellules et tissus végétaux. *Ann. Physiol., Phys-chim. biol.*, 8, p. 124-156.
- PLANTEFOL L. (1932 b). — Les eudiomètres de précision. Description d'un appareil universel ; technique des analyses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 14, p. 929-979.
- PLANTEFOL L. (1933). — Un eudiomètre simple. *Bull. Soc. chim. biol.*, 15, p. 992-1012.
- PLANTEFOL L. (1935). — Les oxydations complémentaires de la fermentation propre chez les Levures. *Ann. Physiol. Phys-chim. biol.*, 11, p. 427-460.

- PLANTEFOL L. (1937 *a*). — Sur les oxydations respiratoires : oxydations intrinsèques et extrinsèques. *C. R. Ac. Sc.*, **204**, p. 370-372.
- PLANTEFOL L. (1937 *b*). — Démonstration du caractère extrinsèque d'oxydations provoquées par le glucose. *C. R. Ac. Sc.*, **204**, p. 1886-1888.
- PLANTEFOL L. (1938 *a*). — Sur la généralité des oxydations extrinsèques. *C. R. Ac. Sc.*, **207**, p. 83-85.
- PLANTEFOL L. (1938 *b*). — Sur les échanges respiratoires des tissus végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, **207**, p. 1121-1123.
- PLANTEFOL L. (1944). — Respiration et fermentation. *Trav. Lab. E. N. S.*, **1**, p. 1-34.
- PLANTEFOL L. et MOYSE A. (1948). — Un appareil universel d'extraction des gaz et un manomètre comparateur, utilisés dans l'analyse des échanges gazeux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **30**, p. 121-128.
- POLONOVSKI M. (1937). — Sur le dosage des acides aminés et des polypeptides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **19**, p. 773-774.
- POLONOVSKI M. (1942). — Eléments de biochimie médicale. Paris, Masson éd.
- POPOV K. J. (1944-1945). — Sur la respiration des feuilles isolées. *Annu. Univ. Sofia., Sc. Nat.*, **41**, p. 1-51.
- PRIANISCHNIKOV D. (1900). — Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Energie des Eiweisszerfalls. *Ber. d. d. Bot. Ges.*, **18**, p. 285-291.
- PRIANISCHNIKOV D. (1922). — Ueber den Aufbau und Abbau des Asparagins in den Pflanzen. *Ber. d. d. Bot. Ges.*, **40**, p. 242-248.
- PRIANISCHNIKOV D. (1924 *a*). — Sur l'assimilation de l'ammoniaque par les plantes supérieures. *Rev. gén. Bot.*, **36**, p. 5-11.
- PRIANISCHNIKOV D. (1924 *b*). — Sur le rôle de l'asparagine dans les transformations des matières azotées chez les plantes. *Rev. gén. Bot.*, **36**, p. 108-122 et 159-181.
- PRIANISCHNIKOV D. et IVANOVA V. (1929). — Sur l'absorption et sur l'excrétion de l'ammoniaque par les racines des plantes. *C. R. Ac. Sc. U. R. S. S.*, p. 327-331.
- PUCHER G. W., LEAVENWORTH C. S., GINTER W. D. et VICKERY H. B. (1947 *a*). — Studies in the metabolism of Crassulacean plants : The diurnal variation in organic acid and starch content of *Bryophyllum calycinum*. *Plant. Physiol.*, **22**, p. 360-376.
- PUCHER G. W., LEAVENWORTH C. S., GINTER W. D. et VICKERY H. B. (1947 *b*). — Studies in the metabolism of Crassulacean plants : the behavior of excised leaves of *Bryophyllum calycinum* during culture in water. *Plant. Physiol.*, **22**, p. 477-493.
- PUCHER G. W. et VICKERY H. B. (1949). — The metabolism of the organic acids of tobacco leaves. I. Effect of culture of excised leaves in solutions of organic acid salts. *Journ. biol. Chem.*, **178**, p. 557-575.
- PUCHER G. W., VICKERY H. B., ABRAHAMS M. D. et LEAVENWORTH C. S. (1949). — Studies in the metabolism of Crassulacean plants : diurnal variation of organic acids and starch in excised leaves of *Bryophyllum calycinum*. *Plant Physiol.*, **24**, p. 610-620.
- PUCHER G. W., VICKERY H. B. et LEAVENWORTH C. S. (1935). — Determination of ammonia and of amide nitrogen in plant tissue. *Industr. and Eng. Chem., Anal. Ed.*, **7**, p. 152-156.
- PURDIE I. A. (1927). — The oxalate content of *Rumex Acetosa* and *Oxalis Acetosella*. *Pharm. Journ.*, **118**, p. 105-106.

- QUETEL R. (1938). — Contribution à l'étude de la périodicité annuelle chez les végétaux. Influence du forçage sur le métabolisme de l'azote, des sucres, et du phosphore. *Th. Doct. Sc. nat.*, Paris.
- RAHN H. (1932). — Untersuchungen über den N-Stoffwechsel pflanzlicher vegetativer Speicherorgane. *Planta*, **18**, p. 1-51.
- RAUTANEN N. (1946). — Transamination in green plants. *Journ. biol. Chem.*, **163**, p. 687-688.
- REIFER I. et MELVILLE J. (1949). — The source of ammonia in plant tissue extracts. II. The influence of urea. *Journ. biol. Chem.*, **178**, p. 715-726.
- RICHARDS F. J. (1938). — Physiological studies in plant nutrition. VIII. The relation of respiration rate to the carbohydrate and nitrogen metabolism of the barley leaf as determined by phosphorus and potassium supply. *Ann. Bot.*, **2**, p. 491-534.
- RICHARDS F. J. et TEMPLEMAN W. G. (1936). — Physiological studies in plant nutrition. IV. Nitrogen metabolism in relation to nutrient deficiency and age in leaves of barley. *Ann. Bot.*, **50**, p. 367-402.
- RICHARDSON G. M. (1934). — Critique on the biological estimation of amino-nitrogen. *Proc. Roy. Soc. (London)*, **B**, **115**, p. 142-169.
- ROSENBERG A. J. (1946). — Rôle des acides α -cétoniques comme accepteurs d'ammoniaque ou comme accepteurs et transporteurs du groupe aminé. I. Influence du glucose et de l'acide pyruvique sur le métabolisme azoté. La désamination de l'alanine par *Cl. saccharobutyricum*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **28**, p. 357-362.
- RUHLAND W. et ULLRICH H. (1929). — Ueber den Einfluss von Nitraten und von Salpetersäure auf die Atmung grüner Blätter. *Planta*, **7**, p. 424-426.
- RUHLAND W. et WETZEL K. (1926). — Zur Physiologie der organischen Säuren in grüner Pflanzen. I. Wechselbeziehungen im Stickstoff und Säurestoffwechsel von *Begonia semperflorens*. *Planta*, **1**, p. 558-564.
- RUHLAND W. et WETZEL K. (1927). — Id. III. *Rheum hybridum* Hort. *Planta*, **3**, p. 765-769.
- RUHLAND W. et WETZEL K. (1929). — Id. V. Weitere Untersuchungen an *Rheum hybridum* Hort. *Planta*, **7**, p. 503-507.
- RUSSELL R. S. (1940). — Observations on the relation of respiration to amino-acid supply in *Elodea*. *Ann. Bot.*, **4**, p. 595-605.
- SAM GRANICK (1938). — Chloroplast nitrogen of some higher plants. *Amer. Journ. Bot.*, **25**, p. 561-572.
- SCHOENHEIMER R., RATNER S. et RITTENBERG D. (1939). — Studies in protein metabolism. X. The metabolic activity of body proteins investigated with l-leucine containing two isotopes. *Journ. biol. Chem.*, **130**, p. 703-732.
- SCHULZE T. (1932). — Untersuchungen über die Bedeutung von Aktivatoren und Paralytoren für den pflanzlichen Eiweissstoffwechsel. *Planta*, **16**, p. 116-173.
- SCHWAB G. (1936). — Studien über Verbreitung und Bildung der Säureamide in der höheren Pflanze. *Planta*, **25**, p. 579-606.

- SINGH B. N. (1936). — The correlation between life duration and respiratory phenomena. *Proc. Indian Ac. Sc.*, B, 2, p. 387-402.
- SMIRNOW A. J. (1928). — Ueber die biochemischen Eigentümlichkeiten des Alterns der Laubblätter. *Planta*, 6, p. 687-766.
- SMIRNOW A. J. et IZWOSCHIKOW W. P. (1930). — Veränderungen der Stickstoffgruppe in Tabak beim Nachreifen. *Biochem. Zeits.*, 228, p. 329-353.
- SOMOGYI M. (1937). — A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *Journ. biol. Chem.*, 117, p. 771-776.
- SPOEHR H. A. et MAC GEE J. M. (1923). — Studies in plant respiration and photosynthesis. I. The carbohydrate-amino-acid relation in the respiration of leaves. *Carnegie Inst. Washington Publ.* 325, p. 1-75.
- STAHL A. L. et SHIVE J. W. (1933). — Studies on nitrogen absorption from culture solutions. I. Oats : *Soil Sci.*, 35, p. 375-399 (a). II. *Fagopyrum esculentum* : *Soil Sci.*, 35, p. 469-483 (b).
- STEWART F. C., BERRY W. E., PRESTON C. et RAMAMURTI T. K. (1943). — The absorption and accumulation of solutes by living plant cells. X. Time and temperature effects on salt uptake by potato discs and the influence of the storage conditions of the tubers on metabolism and other properties. *Ann. Bot.*, 7, p. 221-260.
- STEWART F. C. et PRESTON C. (1940). — Metabolic processes of Potato discs under conditions conducive to salt accumulation. *Plant Physiol.*, 15, p. 23-61.
- STEWART F. C. et PRESTON C. (1941). — The effect of salt concentration upon the metabolism of potato discs and the contrasted effect of potassium and calcium salts which have a common ion. *Plant Physiol.*, 16, p. 85-115.
- STEWART F. C. STOUT P. R. et PRESTON C. (1940). — The balance sheet of metabolites for potato discs showing the effect of salts and dissolved oxygen on metabolism at 23°C. *Plant Physiol.*, 15, p. 409-447.
- STEWART F. C. et STREET H. E. (1947). — The nitrogenous constituents of plants. *Ann. Rev. Biochem.*, 16, p. 471-502.
- STRAIN H. H. (1938). — Leaf xanthophylls. *Carnegie Inst. Washington Publ.*, 490, p. 1-145.
- STREET H. E. (1949). — Nitrogen metabolism of higher plants. *Adv. Enzymol.*, 9, p. 391-454.
- TAMIYA H. (1935). — Le bilan matériel et l'énergétique des synthèses biologiques. Paris, Hermann, éd.
- THODAY D. (1910). — Experimental researches on vegetable assimilation and respiration. VI. Some experiments on assimilation in the open air. *Proc. Roy. Soc.*, (London) B, 82, p. 421-450.
- THODAY D. et MAIRGRETTE JONES K. (1939). — Acid metabolism and respiration in succulent Compositae. I. Malic acid and respiration during starvation in *Kleinia articulata*. *Ann. Bot.*, 3, p. 677-698.
- THODAY D. et RICHARDS K. M. (1944). — Acid metabolism and respiration in succulent Compositae. II. Respiration during starvation in *Kleinia radicans*. *Ann. Bot.*, 8, p. 189-203.
- ULLRICH H. (1924). — Die Rolle der Chloroplasten bei der Eiweissbildung in den grünen Pflanzen. *Zeits. f. Bot.*, 16, p. 513-562.

- VAN SLYKE D. D. (1911). — A method for quantitative determination of aliphatic amino-groups. *Journ. biol. Chem.*, **9**, p. 185-207.
- VAN SLYKE D. D. (1912). — The quantitative determination of aliphatic amino-groups II. *Journ. biol. Chem.*, **12**, p. 275-284.
- VAN SLYKE D. D., MAC FADYEN D. A. et HAMILTON P. (1941). — Determination of free amino-acids by titration of the carbon dioxide formed in the reaction with ninhydrin. *Journ. biol. Chem.*, **141**, p. 671-680.
- VESQUE J. (1878). — L'absorption comparée directement à la transpiration. *Ann. Sc. nat. 6^e s. Bot.*, **6**, p. 201-222.
- VICKERY H. B. (1924). — Some nitrogenous constituents of the juice of the alfalfa plant. *Journ. biol. Chem.*, **60**, p. 647-657.
- VICKERY H. B. et ABRAHAMS M. D. (1949). — The metabolism of the organic acids of tobacco leaves. II. Effect of culture of excised leaves in solutions of d-isocitrate and acetate. *Journ. biol. Chem.*, **180**, p. 37-45.
- VICKERY H. B., LEAVENWORTH C. S. et BLISS C. I. (1949). — The problem of selecting uniform samples of leaves. *Plant Physiol.*, **24**, p. 335-344.
- VICKERY H. B. et PUCHER G. W. (1931). — A source of error in the determination of amide nitrogen in plant extracts. *Journ. biol. Chem.*, **90**, p. 179-188.
- VICKERY H. B. et PUCHER G. W. (1939). — Chemical investigations of the rhubarb plant. III. Interpretations of the behavior of the components during culture of detached leaves under various conditions. *Connecticut Agr. Exp. St.*, **424**, p. 107-157.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. (1935). — The preparation of glutamine. *Journ. biol. Chem.*, **109**, p. 39-42.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W. et CLARK H. E. et CHIBNALL A. C. et WESTALL R. G. (1935). — The determination of glutamine in the presence of asparagine. *Biochem. Journ.*, **29**, p. 2710-2720.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W., SCHOENHEIMER R. et RITTENBERG D. (1940). — The assimilation of ammonia-nitrogen by the tobacco plant : a preliminary study with isotopic nitrogen. *Journ. biol. Chem.*, **135**, p. 531-539.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1933). — Chemical investigations of the tobacco plants. *Carnegie Inst. Washington Publ.*, **445**, p. 1-77.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1937). — Chemical investigations of the tobacco plant. VI. Chemical changes that occur in leaves during culture in light and in darkness. *Connecticut Agr. Exp. St. Bull.*, **399**, p. 757-832.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1939 a). — Chemical investigations of the rhubarb plant. I. Chemical changes that occur in leaves during culture in darkness. *Connecticut Agr. Exp. St. Bull.*, **424**, p. 7-58.
- VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1939 b). — Id. II. Chemical changes that occur in leaves during culture in water in light and in darkness and also in glucose solution in darkness. *Connecticut Agr. Exp. St. Bull.*, **424**, p. 59-105.

- VICKERY H. B., PUCHER G. W., WAKEMAN A. J. et LEAVENWORTH C. S. (1946). — Chemical investigations of the metabolism of plants. I. The nitrogen nutrition of *Narcissus poeticus*. *Connecticut Agr. Exp. St. Bull.*, 496, p. 1-93.
- VIETS F. G. jr., MOXON A. L. et WHITEHEAD E. I. (1946). — Nitrogen metabolism of corn (*Z. m.*) as influenced by ammonium nutrition. *Plant Physiol.*, 21, p. 271-289.
- VIETS F. G. jr., WHITEHEAD E. I. et MOXON A. L. (1947). — Nitrogen metabolism of detached corn leaves in darkness and in light. *Plant Physiol.*, 22, p. 465-476.
- VIRTANEN A. I., ARHILM A. A., SUNDMAN J. et JAENNES L. (1943). — Vorkommen und Bedeutung der Oxalessigsäure in grünen Pflanzen. *Journ. prakt. Chem.*, 162, p. 71-90.
- VIRTANEN A. I. et LAINE T. (1941). — Ueber die Umaminierung in grünen Pflanzen. *Biochem. Zeits.*, 308, p. 213-215.
- VISCONTINI M. (1945). — Action de l'acide nitreux sur le glycolle et sur les polypeptides du glycolle. *C. R. Ac. Sc.*, 220, p. 832-834.
- WALKLEY J. (1940). — Protein synthesis in mature and senescent leaves of barley. *New Phytol.*, 39, p. 362-369.
- WALKLEY J. et PETRIE A. H. K. (1941). — Studies on the nitrogen metabolism of plants. IV. On the changing nature of the relation between proteins and amino-acids. *Ann. Bot.*, 5, p. 661-673.
- WEATHERLEY P. E. (1947). — Note on the diurnal fluctuations in water content of floating leaf disks. *New Phytol.*, 46, p. 276-278.
- WEHMER C. (1911). — Die Pflanzenstoffe. Iena, G. Fischer, éd.
- WEIER E. (1938). — The structure of the chloroplast. *Bot. Rev.*, 4, p. 497-530.
- WEIHE H. D. et PHILLIPS M. (1942). — Hemicelluloses of cornstalks. *Journ. agr. Res.*, 64, p. 401-406.
- WERKMAN C. H. et WOOD H. G. (1942). — Heterotrophic assimilation of carbon dioxide. *Adv. Enzymol.*, 2, p. 135-182.
- WILLSTÄTTER R. et WALDSCHMIDT-LEITZ E. (1921). — Alkalimetrische Bestimmung von Amino-säuren und Peptiden. *Ber. d. chem. Gesel.* 54, p. 2988-2993.
- WILSON J. K. (1915). — Calcium hypochlorite as a seed sterilizer. *Amer. Journ. Bot.*, 2, p. 420-424.
- WOHL K. et JAMES W. O. (1942). — The energy changes associated with plant respiration. *New Phytol.*, 41, p. 230-256.
- WOOD J. G. (1941). — Relations between respiration rate and metabolism of carbohydrate, protein, and organic acids in leaves. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, 19, p. 313-321.
- WOOD J. G. (1942). — Studies on the nitrogen metabolism of plants. VI. Inter-relations among respiration rate, carbohydrates, soluble nitrogen compounds and protein in leaves. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, 20, p. 257-262.
- WOOD J. G. (1945). — Nitrogenous constituents of plants. *Ann. Rev. Biochem.*, 14, p. 665-684.
- WOOD J. G. et BARRIEN B. S. (1939). — Studies on the sulphur metabolism of plants. III. On change in amounts of protein sulphur and sulfate sulphur during starvation. *New Phytol.*, 38, p. 265-272.

- WOOD J. G. et CRUICKSHANK D. H. (1944). — The metabolism of starving leaves. V. Changes in amounts of some amino-acids during starvation of grass leaves; and their bearing on the nature of the relationship between proteins and amino-acids. *Austr. Jour. Exp. Biol. Med. Sc.*, **22**, p. 111-123.
- WOOD J. G., CRUICKSHANK D. H. et KUCHEL R. H. (1943 a, b, c.). — The metabolism of starving leaves : 1-2-3 *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, **21**, p. 37-53.
- WOOD J. G., MERCER F. V. et PEDLOW C. (1944). — The metabolism of starving leaves. 4. Respiration rate and metabolism of leaves of Kikuyu grass during air-nitrogen transfers. *Austr. Journ. Exp. Biol. Med. Sc.*, **22**, p. 37-43.
- WOOD J. G. et PETRIE A. H. K. (1938). — Studies on the nitrogen metabolism of plants. II. Interrelations among soluble nitrogen compounds, water, and respiration rate. *Ann. Bot.*, **2**, p. 729-750.
- WOOD J. G. et PETRIE A. H. K. (1942). — Id. V. The relation of carbohydrate content to protein synthesis in leaves. *Austr. Jour. Exp. Biol. Med. Sc.*, **20**, p. 249-256.
- YARWOOD C. E. (1946). — Detached leaf culture. *Bot. Rev.*, **12**, p. 1-56.
- YEMM E. W. (1935 a). — The respiration of barley plants. I. Methods for the determination of carbohydrates in leaves. *Proc. Roy. Soc. (London)*, B. **117**, p. 483-504.
- YEMM E. W. (1935 b). — Id. II. Carbohydrate concentration and carbon dioxide production in starving leaves. *Proc. Roy. Soc. (London)*, B. **117**, p. 504-525.
- YEMM E. W. (1937). — Respiration of barley plants. III. Protein catabolism in starving leaves. *Proc. Roy. Soc. (London)*, B. **123**, p. 243-273.
- YOVANOVITCH A. (1925). — Microdosage de l'ammoniaque. Application au dosage de l'ammoniaque urinaire. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **7**, p. 665-672.
- ZALESKI W. (1897). — Zur Kenntniss der Eiweissbildung in den Pflanzen. *Ber. d. d. bot. Ges.*, **15**, p. 536-542.
- ZINZADZÉ C. (1932). — Recherches sur la nutrition artificielle des plantes cultivées. Nouveaux mélanges nutritifs à pH stable. *Th. Doct. (Univ.) Sc. nat.*, Paris.



TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	1
Les oxydations cellulaires et les échanges gazeux respiratoires....	1
L'intervention du protoplasme, le rôle des protéines dans la respi- ration	4
Objet du présent travail.....	7
 CHAPITRE I. — Méthodes et techniques	 12
1. Origine et choix des feuilles.....	12
2. Traitement des feuilles.....	13
3. Analyse des échanges gazeux respiratoires.....	14
4. Analyse des constituants azotés.....	16
5. Analyse des différentes fractions glucidiques.....	23
6. Analyse de l'ion oxalique.....	26
7. Expression des résultats des analyses.....	27
 CHAPITRE II. — Le métabolisme des feuilles détachées, en inanition glucidique, à l'obscurité	 30
1. Les principaux travaux sur le métabolisme des feuilles détachées mises à l'obscurité	30
2. Partie expérimentale. Généralités	38
Expérience I. — Limbes de Blé.....	39
Expérience II. — Limbes de Haricot, d'Espagne.....	55
Expérience III. — Limbes de Sarrasin.....	67
Expérience IV. — Limbes d'Oseille	76
3. Discussion.....	85
 CHAPITRE III. — Le métabolisme azoté, les glucides et les échanges gazeux respiratoires des limbes carencés ou non carencés en Azote	 96
A. Généralités	96
1. Le métabolisme azoté des feuilles détachées riches en glu- cides	96
2. Le métabolisme azoté et la respiration des feuilles.....	106
B. Les relations entre les échanges gazeux respiratoires et le méta- bolisme protidique des limbes à faible teneur glucidique.....	114
1. Partie expérimentale.....	114
Expérience V. — Limbes de Blé.....	115

Expérience VI. — Limbes de Blé non préalablement détachés (Expérience de contrôle).....	125
Expérience VII. — Limbes de Haricot d'Espagne.....	130
Expérience VIII. — Limbes de Sarrasin.....	137
2. Discussion	145
C. Les relations entre les échanges gazeux respiratoires et le métabolisme protidique des limbes riches en glucides.....	159
1. Partie expérimentale. Expérience IX. — Limbes de Blé.	159
2. Comparaison entre les variations présentées par les limbes détachés et celles des limbes témoins restés sur les plantes.	168
3. Discussion	174
CONCLUSION.....	184
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	193



335. — Imp. Jouve et C^{ie}, 15, rue Racine, Paris. — 7-1950

L^{ie} Hermann et C^{ie}, Paris

Dépôt légal : 3^e trimestre 1950. — N^o 318
